

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra organické chemie



Filip HANČÍK

Studium acylace Boc chráněného (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu a následné selektivní deprotektce Boc skupiny.

Bakalářská práce

Studijní obor:
Chemie pro víceoborové studium - Geologie a ochrana životního prostředí (uč.) B1407

Vedoucí práce: RNDr. Petr Cankař, Ph.D.

Olomouc 2012

Prohlášení:

Místopřísežně prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod odborným dohledem RNDr. Petra Cankaře, Ph.D. a všechny použité informační zdroje jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Souhlasím s tím, aby byla má práce zpřístupněna v některé z knihoven Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne: 25.4.2012

Podpis:.....
Filip Hančík

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce panu RNDr. Petru Cankarovi, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, připomínky a informace. Dále bych chtěl poděkovat Mgr. Evě Schütznerové za čas, který mi věnovala při práci v laboratoři.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora: Filip Hančík
Název práce : Studium acylace Boc chráněného (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu a následné selektivní deprotektce Boc skupiny.
Typ práce: Bakalářská
Pracoviště: Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Vedoucí práce: RNDr. Petr Cankař, Ph.D.
Rok obhajoby: 2012

Abstrakt:

Cílem bakalářské práce bylo studium acylace Boc chráněného (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu a následné selektivní deprotektce Boc skupiny. Acylační činidla, se kterými se pracovalo, byly benzoylchlorid, 4-nitrobenzoylchlorid, thiofenkarbonylchlorid a acetylchlorid. Práce je rozdělena do několika kapitol. Teoretická část přibližuje danou problematiku syntézy pyrazolů a možnosti využití Boc chránící skupiny. Další část diskutuje dosažené výsledky. V poslední části, experimentální, jsou popsány konkrétní postupy syntéz s optimalizací podmínek. Celou práci ukončují přílohy, kde jsou vyobrazeny LC-MS analýzy.

Klíčová slova: Boc anhydrid, pyrazol, acylace
Počet stran: 44
Počet příloh: 6
Jazyk: Český

BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

Author's first name and Suriname: Filip Hančík
Title : Study of acylation of Boc-protected (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)phenol and subsequent selective Boc-deprotection
Type of thesis: Bachelor
Department: Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc
Supervisor: RNDr. Petr Cankař, Ph.D.
The year of presentation: 2012

Abstrakt:

The aim of my thesis was to study the acylation of Boc-protected (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazole-4-yl)diazenyl)phenol and subsequent selective Boc deprotection. Benzoyl chloride, 4-nitrobenzoyl chloride, thiophene-2-carbonyl chloride and acetyl chloride were used as acylation reagents. The work is divided into several chapters. Theoretical part deals with pyrazole ring synthesis and usage Boc protecting group. Another section discusses achieved results. In the last section, experimental procedures are described with optimized synthetic conditions. LC-MS analyses were inserted into the appendix.

Keywords: Boc anhydride, pyrazole, acylation
Number of pages: 44
Number of appendixes: 6
Language: Czech

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Pyrazoly	9
2.1.1	Syntéza.....	9
2.1.2	Vlastnosti	18
2.2	Boc anhydrid	20
2.2.1	Příprava.....	20
2.2.2	Využití	21
3	PŘEHLED DOSAŽENÝCH VÝSLEDKŮ	26
3.1	Přehledné schéma připravených sloučenin	26
3.2	Příprava výchozích látek	27
3.2.1	Příprava [N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono]malononitrilu (II).....	27
3.2.2	Příprava 4-[(E)-2-(3,5-diamino-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl] fenolu (III).....	27
3.3	Příprava (E)-terc-butyl-3,5-diamino-4-((4-((terc-butoxykarbonyl)oxy)fenyl)diazenyl)-1H-pyrazol-1-karboxylátu (IV)	28
3.4	Příprava Boc-chráněných acylpyrazolů	29
3.5	Deprotekce acylovaných pyrazolů	30
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	32
4.1	[N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono]malononitril (II)	32
4.2	4-[(E)-2-(3,5-diamino-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (III)	32
4.3	(E)-terc-butyl-3,5-diamino-4-[(4-[(terc-butoxykarbonyl)oxy] fenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-1-karboxylát (IV)	33
4.4	(E)-terc-butyl-5-amino-3-benzamido-4-[(4-[(terc-butoxy karbonyl)oxy]fenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-1-karboxylát (Va)	33
4.5	(E)-terc-butyl-5-amino-4-[(4-[(terc-butoxykarbonyl)oxy]fenyl) diazenyl]-3-(4-nitrobenzamido)-1H-pyrazol-1-karboxylát (Vb)	33
4.6	(E)-terc-butyl-5-amino-4-[(4-[(terc-butoxykarbonyl)oxy] fenyl) diazenyl]-3-(thiofen-2-karboxamido)-1H-pyrazol-1-karboxylát (Vc)	34
4.7	(E)-terc-butyl-3-acetamido-5-amino-4-[(4-[(terc-butoxykarbonyl)oxy]fenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-1-karboxylát (Vd)	34

4.8	(E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}benzamid (VIa).....	35
4.9	(E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-4-nitrobenzamid (VIb)	35
4.10	(E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-thiofen-2-karboxamid (VIc)	35
4.11	(E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-acetamid (VIId).....	36
5	ZÁVĚR.....	37
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	39
7	PŘÍLOHY.....	42

1 Úvod

Nedávno bylo zjištěno, že deriváty (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolů jsou účinnými ATP-kompetitivními inhibitory cyklin dependentních kináz CDK2 a CDK9, které řídí buněčné dělení a transkripci. Některé deriváty byly již vyrobeny s použitím 2,4-dimethoxybenzylové chránicí skupiny.¹

Cílem bakalářské práce bylo studium acylace Boc chráněného (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu a následné selektivní deprotektce Boc skupiny. Vycházelo se z předpokladu, že se chránicí Boc skupina váže na endocyklický dusík v pyrazolovém cyklu a na fenolickou hydroxyskupinu. Z tohoto důvodu může docházet k acylacím pouze na nechráněných aminoskupinách.

Z předchozích pokusů bylo dokázáno, že při použití již zmiňované 2,4-dimethoxybenzylové chránicí skupiny dochází k acylacím na exocyklické amino skupině. Snahou bylo dosáhnout stejných výsledků s použitím Boc chránicí skupiny. V literatuře je popsáno několik způsobů navázání chránicí Boc skupiny, které se provádí za různých podmínek. Pyrazoly lze syntetizovat mnoha způsoby, které se odvíjí od zvoleného typu výchozích látek. V rešeršní části jsou popsány syntézy, vztahující se k danému tématu. Dále jsou uvedeny možnosti protektce a deprotektce Boc chránicí skupinou. Záměrem praktické části bylo porovnat metodiky využívající Boc a Dmb chránicí skupinu na endocyklickém pyrazolovém dusíku, zhodnotit získané informace a najít ideální podmínky pro syntézu, již dříve vyrobených (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolů.

2 Teoretická část

2.1 Pyrazoly

Pyrazoly jsou pětičlenné heterocyklické sloučeniny aromatického charakteru se dvěma heteroatomy. Jejich aromatická odlišnost významně brání substitučním reakcím kruhu.² V této podkapitole bude uvedena jejich syntéza a reaktivita.

2.1.1 Syntéza

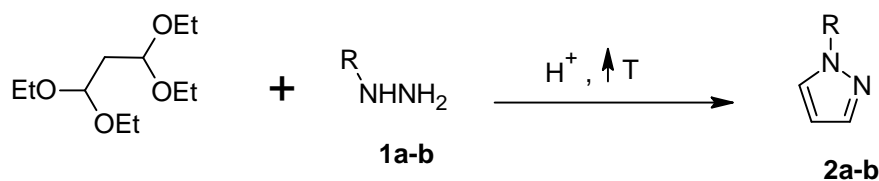
O syntézách pyrazolů bylo napsáno mnoho knih³⁻⁶ a sborníků^{7,8}. Jedná se o dobře známé a rozšířené syntézy. První pyrazoly byly připraveny již ve druhé polovině 19. století. Dnes známe velké množství syntetických metod přípravy, které jsou založené na uzavírání cyklu, přeměně cyklu nebo aromatizací výchozího heterocyklu. Metod pro syntézy pyrazolů je opravdu celá řada. Z tohoto důvodu byly proto vybrány typické vzorové syntézy, které reprezentují chemii pyrazolů, či s daným tématem souvisí nebo jsou něčím výjimečné.

2.1.1.1 Syntézy založené na uzavírání cyklu

Velmi důležitým faktorem je výběr reagujících komponent, které se mohou podílet na vzniku pyrazolů. Můžou to být fragmenty N-N-C, C a C dále pak N-N-C a C-C; N-N-C-C a C; N-C-C-C-N a C-N-N-C-C. Asi nejčastějšími a nejvíce rozšířenými syntézami jsou reakce, při kterých reagují látky s vazebným uspořádáním C-C-C a N-N. Těmto bude věnována největší pozornost.⁹

Velmi běžnými příklady syntéz pyrazolů jsou reakce malonaldehydových acetalů a hydrazinů. Konkrétním případem může být reakce 1,1,3,3-tetraethoxypropanu s hydrazinem **1a**, která probíhá v kyselém prostředí. Přidává se voda a ethanol. Reakční směs byla zahřívána a následně ochlazena. Dochází k cyklizaci a vzniku 1*H*-pyrazolu **2a**. Ethanol byl odstraněn na RVO.²¹ Tato metoda může pracovat nejen s hydrazinem a

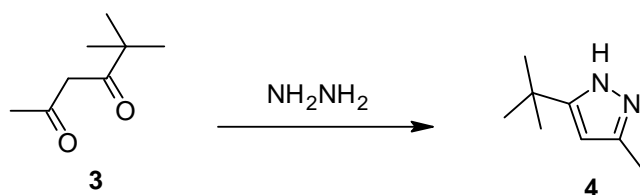
fenylhydrazinem, ale také 2-nitrofenylhydrazinem, 3-nitrofenylhydrazinem a 4-nitrofenylhydrazinem ve vysokých výtěžcích.^{10,11}



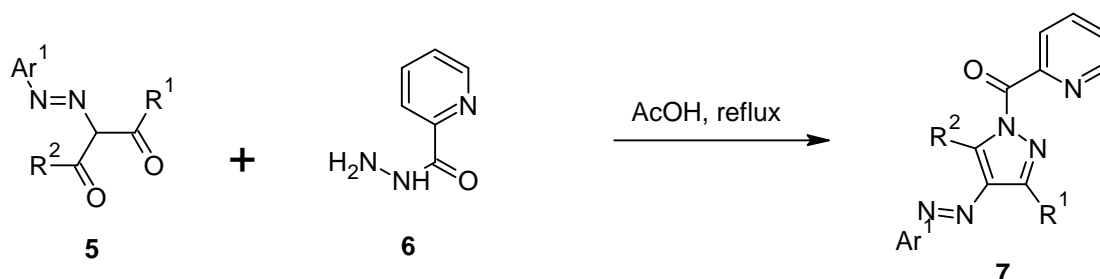
a: R= H

b: R= Ph

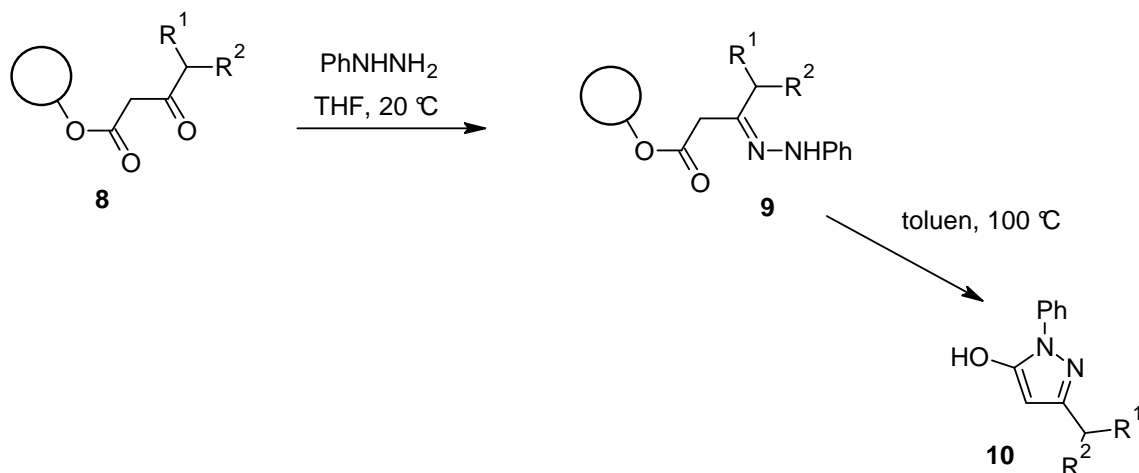
Reakce β -diketonů a hydrazinů jsou jedny z nejrozšířenějších metod příprav pyrazolů. Jako hydrazinových sloučenin se používá celá řada derivátů, například hydrazin samotný, alkyl-, aryl-, heteroaryl- a acylhydrazin. Reakce nejčastěji probíhají ve směsi voda-ethanol. Báze se přidává zároveň s hydrazinem. V mnoha případech dochází k tvorbě izomerních pyrazolů, ale často je jen jeden izolován. Při reakci hexandionu **3** s hydrazinem vzniká 3,5-disubstituovaný pyrazol **4** ve velmi dobrých výtěžcích.¹²



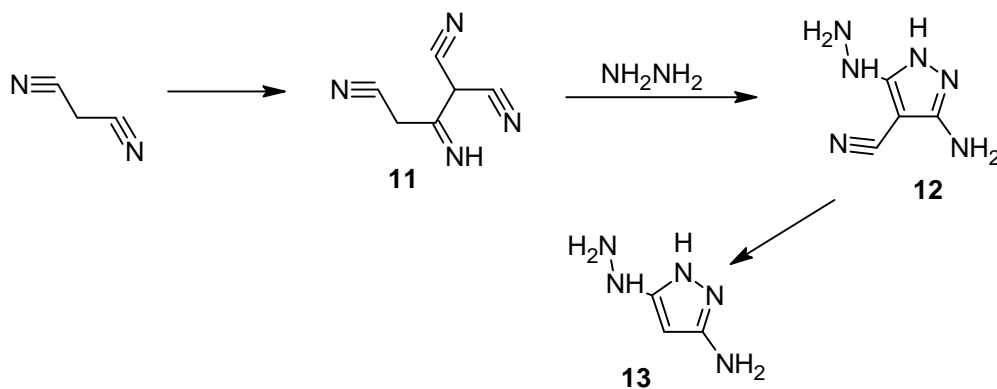
Metodami, při kterých vzniká chráněný pyrazol v pozici 1, je například reakce 2-aryldiazenyl-1,3-dikarbonylových sloučenin a hydrazidů. 2-(Aryldiazenyl)-1,3-dikarbonylová sloučenina **5** a pyridin-2-karbohydrazid **6** cyklizuje při zahřívání v kyselém prostředí na pyrazol **7**. Nejčastěji se na pozici R¹ používá fenyl, na pozici R² byla tato reakce provedena s methylem a fenylem. Na pozici Ar¹ se pracovalo s fenylem a 2-chlorbenzenem. Při všech těchto syntézách se dosahovalo dobrých výtěžků.¹³



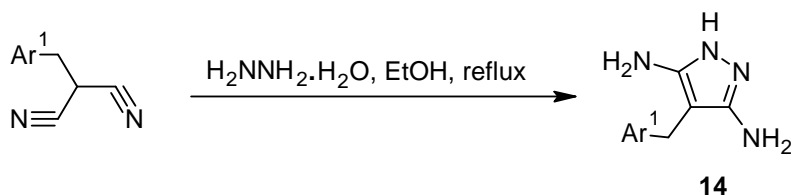
Reakce esterů 3-oxokarboxylových kyselin s hydrazinem jsou obdobnou reakcí mezi 1,3-dikarbonylovými sloučeninami a hydraziny. Syntéza byla rovněž provedena na pevné fázi. Při reakci polymerně vázaného γ -alkylovaného β -oxoesteru **8** dochází k jeho transformaci na fenyldiazon **9**. Jeho zahříváním vznikají různě substituované pyrazoly **10**. Na pozici R^1 je téměř výhradně vodík. Pozice R^2 může být zastoupena isopropylenem, benzenem, ale i 2-methylbut-2-enem. Při zastoupení těchto sloučenin se dosahuje vysokých výtěžků.¹⁴



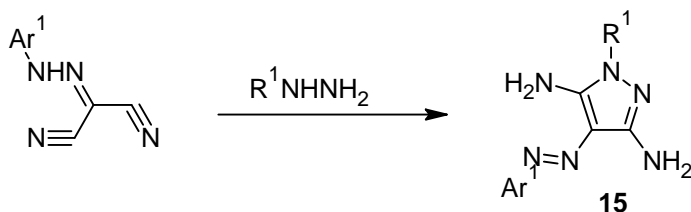
Velmi častou metodou přípravy pyrazolů je použití malononitrilu a jeho derivátů s hydrazinem. Malononitril v kyselém nebo zásaditém prostředí dává 2-iminopropan-1,1,3-trikarbonitril **11**. Pokud se přidá 80% hydrazin hydrát, tak dochází ke vzniku pyrazolu **12**. Ten se odpaří na RVO a po přidání kyseliny chlorovodíkové se tvoří pyrazol **13**.^{15,16}



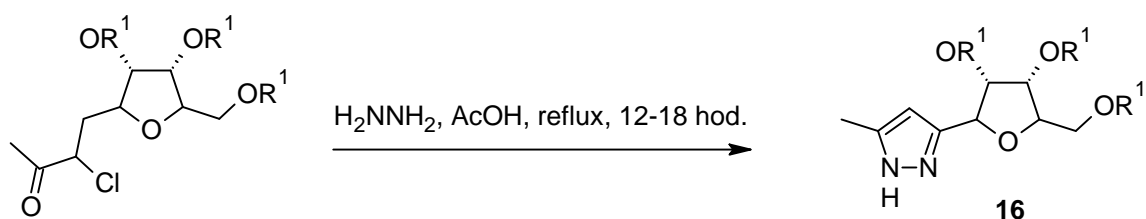
Podobným případem je využití 2-substituovaného malononitrilu a hydrazinu. Při těchto reakcích vznikají 4-substituované pyrazol-3,5-diaminy **14** nebo 4-(aryldiazenyl)pyrazol-3,5-diaminy **15**¹⁷ v závislosti na výchozích látkách. V prvním případě byly substituenty aromatické látky typu fenol, toluen, chlorbenzen nebo nitrobenzen.¹⁸



V druhém případě se dosahovalo vyšších výtěžků a na pozici R¹ se použil vodík nebo fenol. Pozice Ar¹ byla zastoupena fenolem, toluenem nebo chlorbenzenem.¹⁷

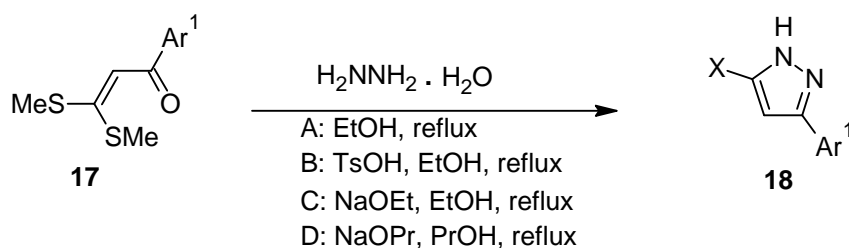


Zajímavou metodou přípravy pyrazolů je formování z alk-2-en-1-onu se snadno odštěpitelnou skupinou v pozici 1 nebo 2. Reakce se provádí s hydrazinem. Při této metodě mohou vznikat C-nukleosidy **16**, a to v případě, že na pozici R¹ bude fenol nebo benzoylhalogen.¹⁹

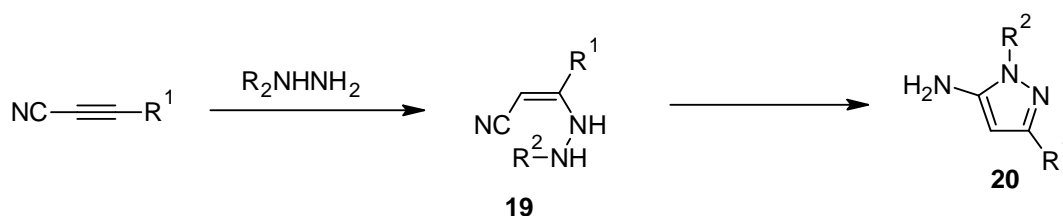


Metody příprav pyrazolů se sirnými analogy jsou také dobře známy. Při těchto reakcích se dosahuje obzvláště vysokých výtěžků. 1-Aryl-3,3-bis(methylsulfanyl)prop-2-en-1-on **17** reaguje s hydrazin hydrátem za vzniku 3,5-disubstituovaných pyrazolů **18**. K začlenění alkoxy skupiny na pozici X v pyrazolu **18** může dojít před i po cyklizaci a je velmi obtížné zjistit, v kterém stadiu reakce se tak stalo. Touto metodou, při které se používají bifunkční reaktanty, vznikají heterocykly s požadovanými substituenty. Dosahuje se toho nahrazením methylsulfanylové skupiny. Klíčovým faktorem jsou

reakční podmínky, které určují typ substituované látky. Za použití všech podmínek se na pozici Ar¹ vyskytovaly fenol a methoxybenzen. Látky na pozici X se s různými podmínkami měnily. V postupu A byla na pozici X methylsulfanylová skupina a reakce dosahovaly výtěžků okolo 90%. V postupu B byla na pozici X vyzkoušena hydroxylová skupina s výtěžností okolo 80%. Při použití reakčních podmínek C byla pozice X zastoupena ethanolátem s výtěžky přesahující 65%. Nejmenší výtěžnosti okolo 60% bylo dosaženo při aplikaci podmínek D, kde byla pozice X nahrazena propanolátem.²⁰

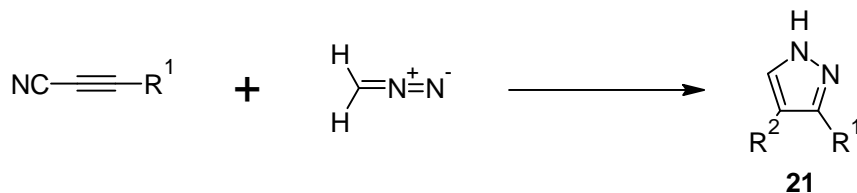


Dalším způsobem přípravy pyrazolů jsou reakce alk-2-ynitridů s hydraziny a substituovanými hydraziny za vzniku akrylonitrilových meziproductů **19**. Substituovaný hydrazin se váže více nukleofilním atomem dusíku. Následná cyklizace vede k tvorbě pyrazol-5-aminů **20**. Ve zkoušených syntézách se na pozici R¹ vyskytoval fenol a pozice R² byla postupně zastoupena vodíkem, fenolem a 2-pyridylem. Dosahovalo se velmi dobrých výtěžků.^{21,22}

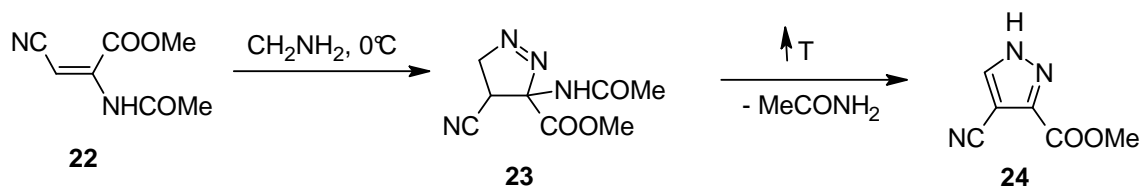


Další velkou skupinou syntéz vzniku pyrazolů jsou reakce využívající fragmenty N-N-C a C-C. Velmi typickým příkladem jsou reakce diazomethanu s alkyne. Reakce s diazomethanem je prováděna v diethyleteru v rozmezí teplot 0-20°C a po dobu jedné hodiny až několika dní. Zatímco s disubstituovaným diazomethanem musí být reakční teplota vyšší, jinak by nedošlo k přeskupení na 1*H*-pyrazol **21**. Většinou jsou reakce prováděny za tmy, aby se zabránilo fotochemickému rozkladu. Občas se pracuje i v inertním prostředí. Nejvyšší výtěžnost byla prokázána u reakcí, kde se na pozici R¹ vyskytovala trimethylsilylová skupina nebo trifenylsilan. Pozice R² byla v obou případech zastoupena vodíkem. Doba, při které reakce probíhaly, byla 4, resp. 5 hodin.

Nejkratší reakční čas měly reakce, kdy se na pozici R¹ vyskytoval fluoroform nebo methylformát. Pozice R² byla zastoupena fluoroformem, resp. vodíkem. Reakce byly prováděny i s dalšími substituenty.^{23, 24, 25}



Častou metodou je získávání pyrazolů z diazoalkanů a alkenů s následnou eliminací. Methyl (2*E*)-2-acetamido-3-kyanoacrylát **22** byl přidán k eterickému diazomethanu za chlazení. Vznikající meziproduct **23** se zahřívá za tvorby pyrazolu **24**.²⁶

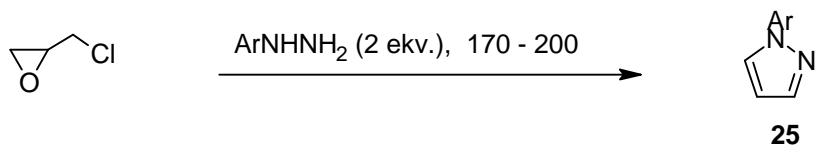


Metod popisující syntézu pyrazolů na základě uzavírání kruhu je celá řada. Byly zmíněny především ty, které souvisí s prováděnými syntézami nebo jsou typické pro syntézu pyrazolů.

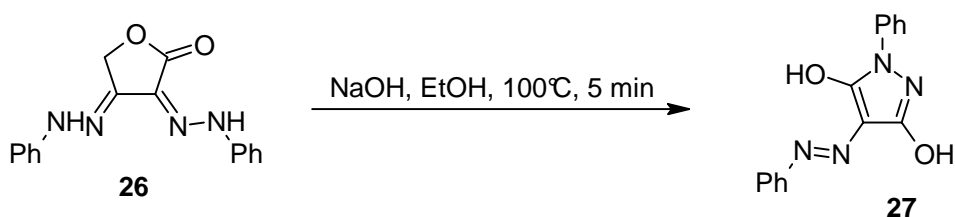
2.1.1.2 Syntézy založené na přeměně cyklu

Acyl-substituované a další heterocykly mohou být analogií 1,3- dikarboxylových sloučenin v syntézách pyrazolů. Reagují především s hydratovanými a substituovanými hydraziny. Přeměnou kruhu je myšleno jeho rozšíření, zúžení nebo záměna s jiným či jinými centrálními atomy heterocyklu.²⁷

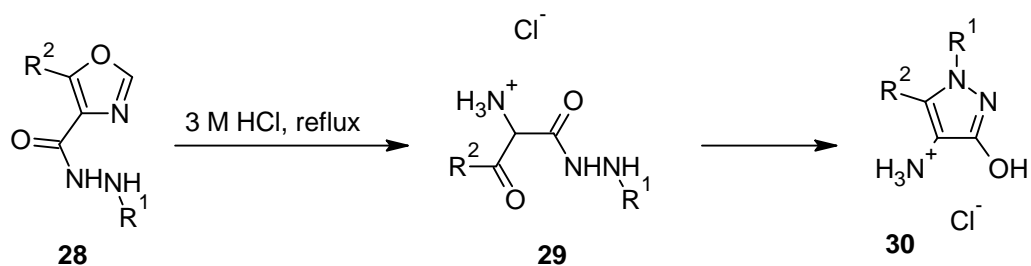
Vhodný příklad rozšíření řetězce je reakce epichlorhydrinu s arylhydraziny. Arylhydrazin hraje roli dehydrogenačního činidla a dochází ke vzniku 1-arylpyrazolů **25**. Vysokých výtěžků se dosahovalo při použití fenylu, fenylacetátu nebo fenylmethanolu na pozici Ar.²⁸



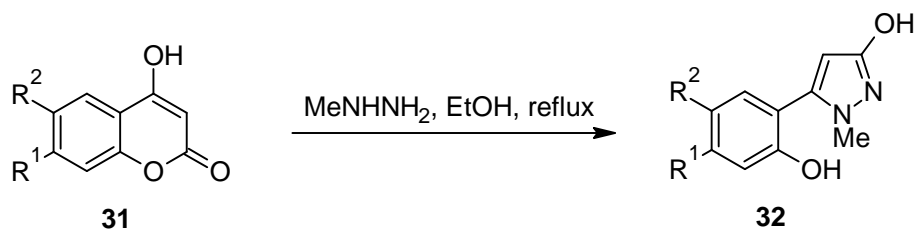
Nejčastější záměny heterocyklického atomu jsou prováděny z furanů. Furanon **26** cyklizuje v alkalickém prostředí na pyrazol **27**. Tato metoda je analogií syntézy pyrazolů, které vychází z α -hydrazono- β -oxo esterů. Obměnou fenylu může být chlorbenzen s vázaným atomem chloru v různých pozicích.²⁹



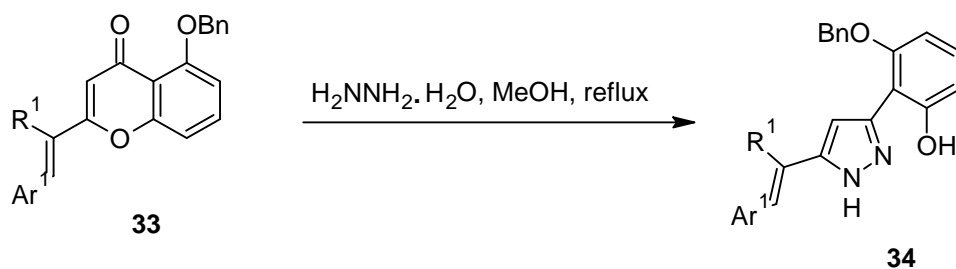
Dalším typickým příkladem syntéz pyrazolů jsou reakce vycházející z oxazolů. Zajímavou metodou je použití oxazol-4-karbohydrazidů **28** jako výchozích látek. Po přidání 3M kyseliny chlorovodíkové dochází k otvírání kruhu a vzniku 1-hydrazino-1,3-dikarbylových sloučenin **29**. Následnou cyklizací se tvoří 4-aminopyrazol-3-ol **30**. Při použití vodíku na pozici R^1 a fenylu, fluoroformu nebo methoxybenzenu na pozici R^2 se nedosahuje vysokých výtěžků. Pokud se ale použije na pozici R^1 methyl a na pozici R^2 fenyl, dosahuje výtěžnost 90%.³⁰



Kontrakce cyklů, na jejímž konci jsou pyrazoly, je dnes již hojně rozšířenou metodou. Pracuje se především se šestičlennými cykly jako jsou například pyran a benzopyran. Benzopyranon **31** reaguje s methylhydrazinem za vzniku 5-(2-hydroxyfenyl)-1-methylpyrazol-3-olu **32**. Nejvyšší výtěžnosti dosahuje reakce při použití vodíku na pozici R^1 a methylu na pozici R^2 . Reakci je možné uskutečnit také v případě, kdy bude na pozici R^1 methyl, hydroxy nebo methoxy skupina a na pozici R^2 vodík.³¹



Obdobnou reakcí je použití benzopyranonu **33** k syntéze styrylpyrazolu **34**. Pracuje se v nadbytku hydratovaného hydrazinu za přítomnosti methanolu. Přitom se tvoří malé kvantum vedlejších produktů, které ovšem roste zvětšením množství hydratovaného hydrazinu nebo prodloužením reakční doby. Pokud bude pozice R^1 obsazena methylem a pozice Ar^1 *tert*-butylbenzenem, dá se očekávat dobrá výtěžnost. Místo methylu může být v pozici R^1 vázán i vodík a reakce je uskutečnitelná i s fenolem nebo methoxybenzenem v pozici Ar^1 .³²

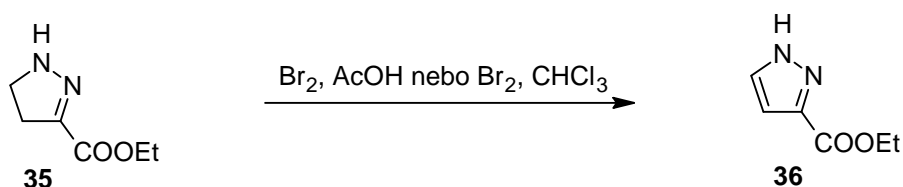


2.1.1.3 Syntézy založené na aromatizaci

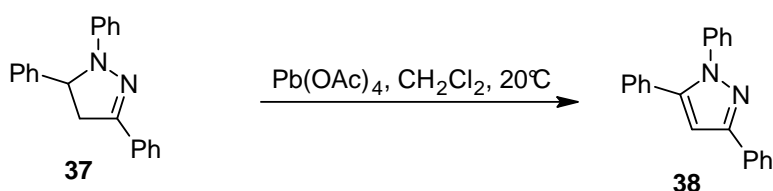
Mezi nepoužívanější metody aromatizace patří beze sporu dehydrogenace. Při dehydrogenaci hrají důležitou roli oxidační činidla. Mezi nejrozšířenější patří *p*-chloranil, *o*-chloranil, brom a jod. K dehydrogenaci dochází hlavně u dihydropyrazolů. Další metodou přípravy pyrazolů je eliminace. Ta má za následek dehydrataci a vede k tvorbě různě substituovaných pyrazolů. V případě přesmyku, kterým můžeme také tvořit pyrazoly, se jedná o méně běžnou metodu. Účinnost je ovšem srovnatelná s předešlými.³³

Typickým příkladem dehydrogenace je využití bromu jako oxidačního činidla. Pracuje se v prostředí kyseliny octové nebo chloroformu za pokojové teploty. Při použití ethyl 4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-3-karboxylátu **35** vzniká dehydrogenací ethyl 1*H*-pyrazol-3-

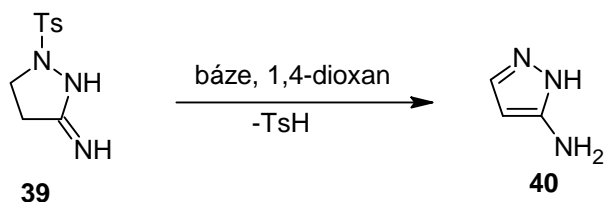
karboxylát **36**. Dá se použít i jinak substituovaný dihydropyrazol. Pokud bude na pozici 3 navázán fenol a na pozici 4 kyselina octová dosahuje výtěžnost 90%.^{34,35}



Obdobným typem syntézy je použití octanu olovnatého, který reaguje v prostředí kyseliny octové nebo dichlormethanu v rozmezí teplot -5 až 20°C . Při reakci pyrazolu **37** v dichlormethanu a octanu olovnatém dochází při pokojové teplotě ke vzniku pyrazolu **38**. Reagovat mohou i jinak substituované dihydropyrazoly. Pokud bude v pozici 3 navázán methyl a v pozici 5 vodík, lze dosáhnout vysokých výtěžků. Platí to také pro nitrobenzen navázán na atomu dusíku v pozici 1, kde se výtěžnost pohybuje okolo 90%.³⁶

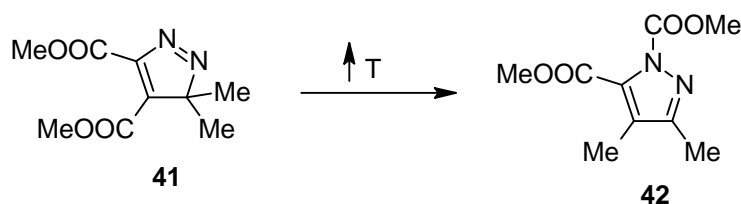


Při reakci pyrazolidiniminu **39**, v přítomnosti báze jako například triethylaminu nebo hydrogenuhličitanu sodného, dochází k reduktivní eliminaci tosylu a tvorbě $1H$ -pyrazol-5-aminu **40**. Dosahuje se téměř 100% výtěžků. Podobně vysoké výtěžnosti lze dosáhnout při použití methylu nebo ethylu navázaných na atomu dusíku v pozici 2. Metoda byla zkoušena s oxo skupinou, která nahrazovala amino skupinu v pozici 3. Výtěžky byly o třetinu nižší.^{37,38}



Jak již bylo zmíněno, přesmyky nejsou běžnou metodou přípravy pyrazolů, ale za to velmi zajímavou. Ve 3,3-disubstituovaném $3H$ -pyrazolu může dojít k přesmyku substituentu vázaného v pozici 3 a vzniku aromatického $1H$ -pyrazolu. Docílí se toho

vysokou teplotou, kyselinou nebo zásaditým katalyzátorem. Jsou možné 2 typy přesmyků. U prvního typu [1,5] přesmyku přechází substituent z pozice 3 na C4. U druhého typu [1,5] přesmyku přechází substituent z pozice 3 na atom dusíku v pozici 1. Pokud budeme zahřívat pyrazoldikarboxylát **41**, dostaneme pyrazol **42**. Reakci lze uskutečnit i v případě, že místo methylu v pozici 3 bude vázán fenyl, či ethyl. Místo methoxykarbonylové skupiny v pozici 4 může být umístěn vodík a reakce bude taktéž realizovatelná.^{39,40}



2.1.2 Vlastnosti

K charakteristickým vlastnostem pyrazolů patří jejich aromaticita, která je závislá na substituentech, které jsou navázány.² Mohou se vyskytovat ve 3 tautomerních formách, ale pouze 1*H*-pyrazol má aromatický charakter.⁴¹ Mohou také sloužit jako prekurzory pro další syntézy, například (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolů.

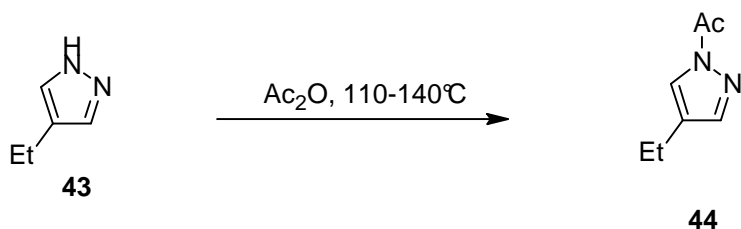
2.1.2.1 Reaktivita

Pyrazoly podléhají celé řadě reakcí v závislosti na pozici v heterocyklu. Substituce, adice a přesmyk patří k nejčastějším typům reakcí.² V následující části bude pozornost zaměřena na *N*-acylace probíhající na pyrazolovém kruhu.

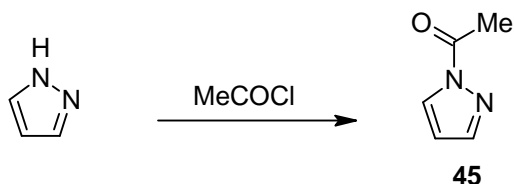
2.1.2.1.1 N-Acylace

1-Nesubstituované pyrazoly reagují s celou řadou acylačních činidel za vzniku 1-acylpyrazolů. 3,5-Nesymetrické disubstituované pyrazoly vytváří směsi 2 izomerů.

Velmi běžnou metodou N-acylací je použití acetanhydridu. Reakce je prováděna buď za vyšších teplot nebo ve směsi acetanhydridu a pyridinu v rozmezí 90-100 °C. Pokud se ke 4-ethyl-1*H*-pyrazolu **43** přidá acetanhydrid a reakce se dostatečně zahřeje, tak dochází ke vzniku 1-acetyl-4-ethyl-1*H*-pyrazolu **44**. Podobný průběh bude mít reakce i v případě, že bude v pozici 3 vázán ethyl nebo brom, v pozici 4 se bude vyskytovat chlor, vodík nebo brom a v pozici 5 bude ethyl nebo brom.^{42,43,44}

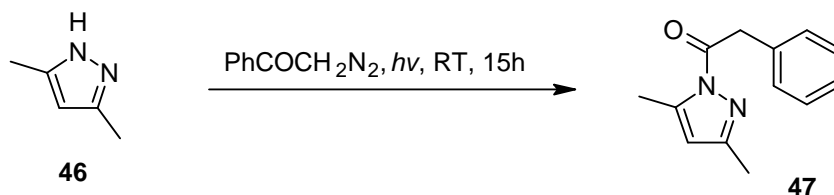


Další hojně uplatňovanou metodou je využití acylchloridu. Obvykle se pracuje v přítomnosti terciárních aminů jako je například triethylamin. Dá se použít také pyridin v diethyletheru nebo tetrahydrofuran. Důležité jsou reakční podmínky. Většinou se pracuje s benzenem při 20°C a reakční směs se nechá den reagovat. Zkoušelo se také prostředí diethyleteru s pyridinem a reakční doba se zkrátila na dvě hodiny. I za těchto podmínek se dosahovalo vysokých výtěžků. Například samotný 1*H*-pyrazol reakci s methylchloridem poskytuje acylovaný pyrazol **45**. Reakci lze také uskutečnit, pokud bude na pozici 3 methyl, na pozici 4 brom, jod nebo methyl a na pozici 5 methyl.⁴⁴



Použití diazoketonů jako acylačních činidel je také rozšířeným způsobem N-acylací pyrazolových derivátů. Reakce probíhají za použití dvou typů reakčních podmínek. Prvním typem je fotochemický rozklad po dobu 15-75 hod. Druhým typem je klasické tepelné zahřívání v rozmezí teplot 110-130°C po dobu 45 min. 3,5-Dimethyl-1*H*-

pyrazol **46** se nechá reagovat s 2-diazo-1-fenylethanonem po dobu 15 hod. za vzniku 3,5-dimethyl-1-(fenylacetyl)-1*H*-pyrazolu **47**. Reakci je možno realizovat náhradou v diazoketonu za toluen, methoxybenzen či nitrobenzen.⁴⁵

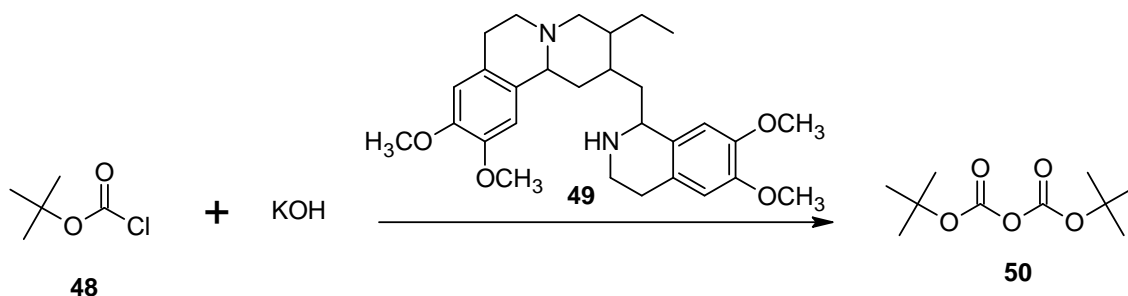


2.2 Boc anhydrid

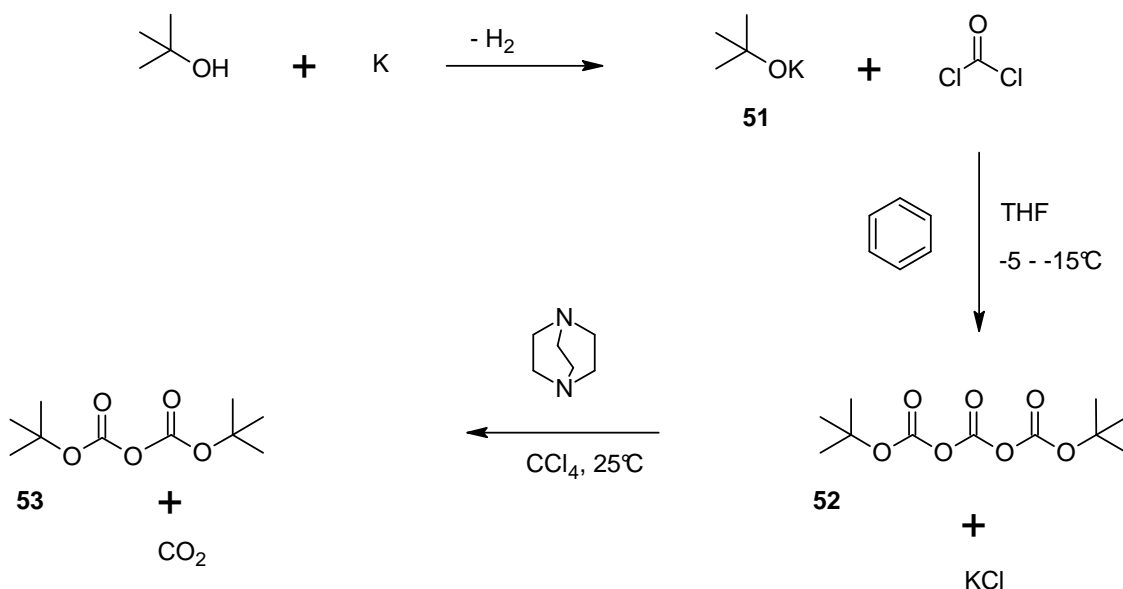
Tato podkapitola je zaměřena na Boc chránící skupinu. Přiblížíme si její přípravu a využití v běžných syntézách. Boc anhydrid, přesněji di-*tert*-butyl dikarbonát, je ester, který se využívá ve velkém měřítku v syntézách peptidů jako ochrana amino skupin.⁴⁶ Jeho využití je ovšem širší a nezůstává pouze u amino skupin. Jedná se o rozsáhle využívané a v organické chemii velmi účinné činidlo, které se dále používá jako chránící skupina pro alkoholy, fenoly a thiooly.⁴⁷ Tato skupina sloužila jako chránící prvek během acylací (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolů.

2.2.1 Příprava

Nejběžnější metodou syntézy Boc skupin je esterifikace karboxylových kyselin s *tert*-butanolem, *tert*-butyl bromidem nebo isobutylenem.⁴⁸ Dříve byla syntéza Di-*tert*-butyl dikarbonátu náročná a zdlouhavá. V ranných začátcích se k výrobě diesterů používalo více krokových reakcí, kde spolu reagovaly chlorované alkyly s hydroxidy. Konkrétním příkladem je reakce *tert*-butyl chlorokarbonátu **48**, který reaguje s hydroxidem draselným v přítomnosti alkaloidu emetinu **49**. Výsledným produktem je již zmiňovaný di-*tert*-butyl dikarbonát **50**.⁴⁹



Nejčastější a nejlépe popsanou syntézou je reakce, při níž se nejprve nechá *tert*-butanol **51** zreagovat s alkalickým kovem, v našem případě s draslíkem a následně se přidá fosgen. Vzniká di-*tert*-butyl trikarbonát **52**, který se v přítomnosti 1,4-diazabicyclo[2.2.2]oktanu dekarboxyluje na di-*tert*-butyl dikarbonát **53**.⁵⁰



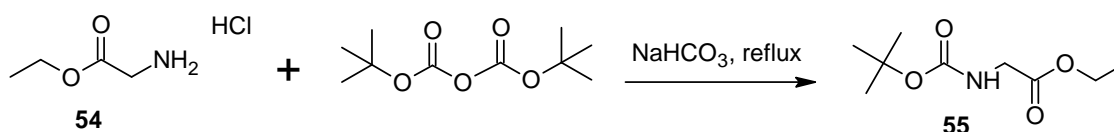
2.2.2 Využití

V následující podkapitole bude zmíněno, kde a jakým způsobem se dá Boc anhydrid využít. Jak již bylo uvedeno výše, nejčastěji je Boc skupina používána pro amino skupiny, dále pak alkoholy, thioly a také karboxylové kyseliny. Skupin, kde se dá di-*tert*-butyl dikarbonátu využít je ovšem více, ale zde uvedené jsou nejčastější.

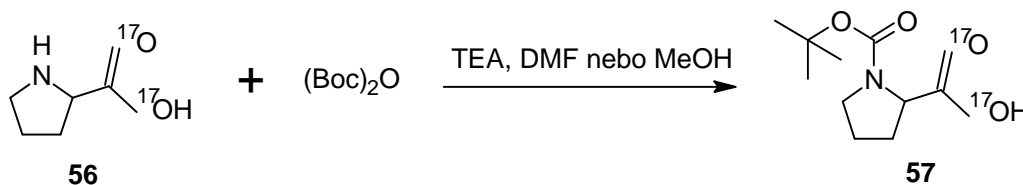
2.2.2.1 Ochrana amino skupin

Tvorba Boc chráněných aminů se provádí buď za vodných nebo bezvodých podmínek reakcí s anhydridem $(\text{Boc})_2\text{O}$ v přítomnosti báze.⁵¹

Mezi velmi rozšířené metody zavádění Boc skupiny jsou reakce využívající vodné prostředí. Konkrétním příkladem může být použití ethylaminoacetát hydrochloridu **54**, který ve vodném prostředí tvoří s $(\text{Boc})_2\text{O}$ ethyl[(*tert*-butoxykarbonyl)amino]acetát **55**. Důležitá je přítomnost hydrogenuhličitanu sodného, který slouží jako báze. Reakce jsou uskutečnitelné i v případě, že místo **54** bude D -Tryptofan, L -Leucin nebo 4-OH- L -Prolin. Z toho vyplývá, že tato metoda je určena především pro aminokyseliny. Velkou výhodou je to, že vznikající vedlejší produkty jsou inertní a lehce odstranitelné.⁵² Druhou stranou mince je ovšem fakt, že většina syntéz se provádí z látek ve vodě nerozpustných ba dokonce přítomnost vody je kritická. Proto se začaly rozvíjet metody pracující výhradně v bezvodém prostředí.

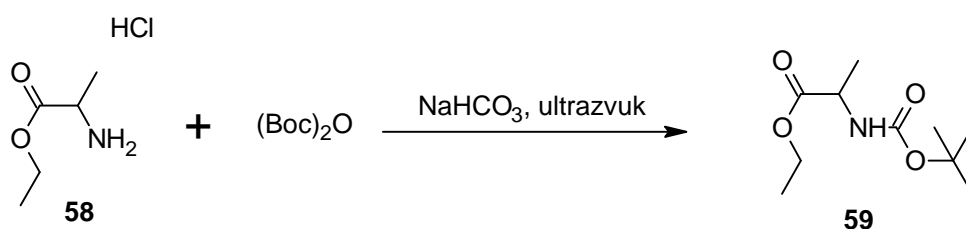


Značně využívanou metodou pracující v bezvodém prostředí je ochrana značených O^{17} obsažených v karboxylové skupině aminokyselin. V přítomnosti vody by mohlo docházet k záměně značených atomů kyslíku. Pokud se nechá zreagovat L -prolin- $^{17}\text{O}_2$ **56** s Boc skupinou v DMF nebo methanolu, tak dochází ke vzniku 1-(*tert*-butoxykarbonyl)pyrrolidin-2-karboxylové-2,2- $^{17}\text{O}_2$ kyseliny **57**. V tomto případě tvoří bázi triethylamin. Zjistilo se, že při práci v DMF dochází k vyšším výtěžkům než v methanolu.⁵³

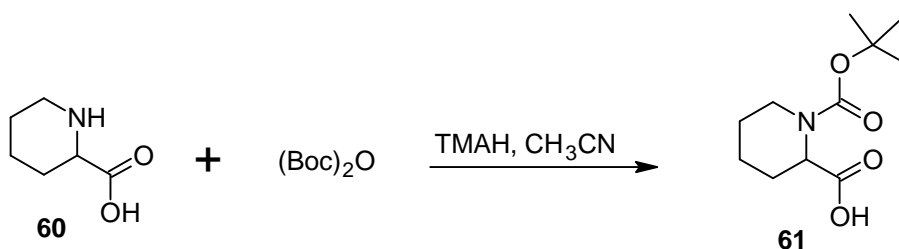


Další rozšířenou metodou je zavedení Boc chránící skupiny v prostředí methanolu nebo ethanolu. Jako báze se používá hydrogenuhličitan sodný. Syntéza je podporována ultrazvukem. Tato metoda umožňuje snadnou práci a poskytuje chráněné sloučeniny

ve vysokém výtěžku. Při reakci hydrochloridu ethyl 2-aminopropanoátu **58** s *tert*-butyl dikarbonátem vzniká ethyl 2-[(*tert*-butoxykarbonyl)amino]propanoát **59**.⁵⁴



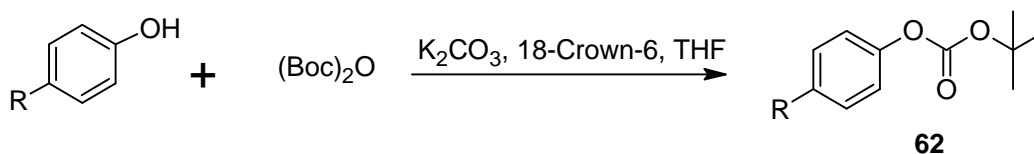
Špatná rozpustnost zwitterionických aminokyselin v aprotických rozpouštědlech může být limitujícím faktorem. Proto se využívá tetramethylammonium hydroxidu (TMAH), který slouží jako rozpouštědlo lipofilní povahy a zároveň jako báze. Vzniklá tetramethylammoniová sůl, která je rozpustná v organických rozpouštědlech, umožňuje použití suchého acetonitrilu. Za těchto podmínek se dosahuje vysokých výnosů přesahujících 90%. Pokud se tedy přidají k piperidin-2-karboxylové kyselině **60** 2 ekvivalenty Boc anhydridu, tak dochází ke vzniku piperidin karboxylové kyseliny **61**.⁵⁵



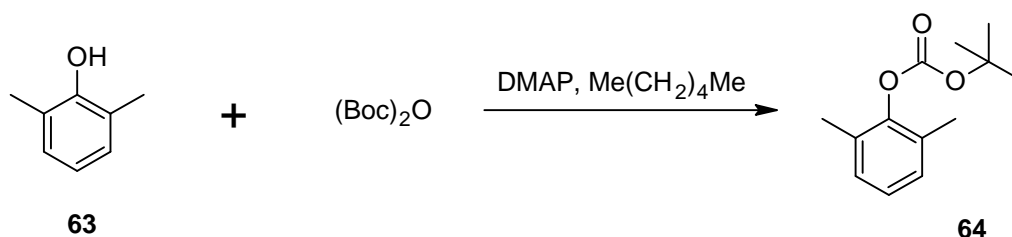
2.2.2.2 Ochrana fenolů

Jak již bylo dříve zmíněno, Boc chránící skupina se nepoužívá pouze u amino skupin, ale také u fenolů. Dají se využít dva způsoby. Syntézy probíhají nejrychleji použitím fázového rozhraní kapalina-kapalina nebo kapalina-pevná látka. V případě kapalina-pevná látka dochází k reakcím mezi fenoly, di-*tert*-butyl dikarbonátem, THF nebo ethylacetátem. Alternativou může být použití dichlormethanu v přítomnosti katalytického množství 1,4,7,10,13,16-hexaoxocyklooktadekanu (18-Crown-6) a práškového uhlíčitanu draselného. Při použití fázového rozhraní kapalina-kapalina, spolu reagují fenol v prostředí dichlormethanu, hydroxid sodný nebo uhlíčitan draselný

jako báze a tetrabutylammonium hydrogen sulfátem jako katalyzátorem. Vznikají tak *tert*-butoxykarbonylované fenoly **62**.⁵⁶

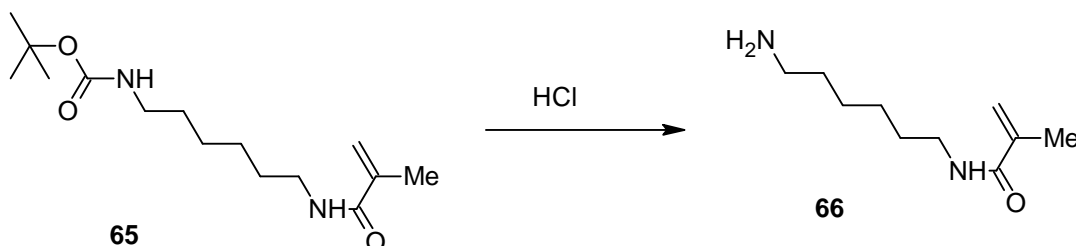


Druhým způsobem je přímá acylace. Důležité je použití 4-dimethylaminopyridinu (DMAP) jako katalyzátoru. Ačkoliv se acetonitril a dichlormethan používají jako standardní rozpouštědla během Bocování, byly nakonec vybrány hexany, které tvoří čistější látky. Když se k 2,6-dimethylfenolu **63** v hexanu přidá již zmiňovaný DMAP, a mírný nadbytek Boc anhydridu, tak se dá očekávat vznik *tert*-butyl 2,6-dimethylfenyl karbonátu **64**.⁵⁷

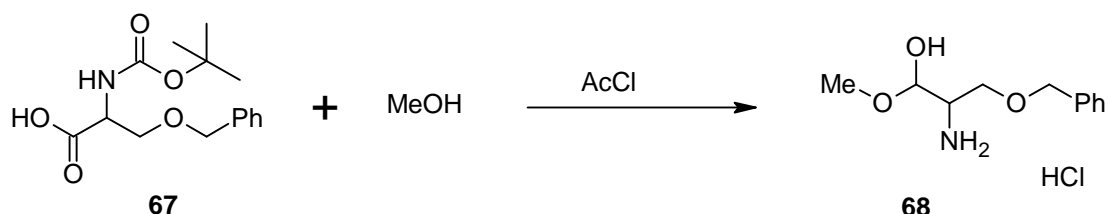


2.2.2.3 Odštěpení chránících skupin

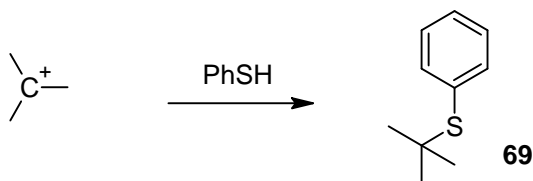
Velmi často se k odštěpení Boc chránících skupin používá 3M kyselina chlorovodíková. Při použití methanolu jako rozpouštědla, nedochází k ovlivnění průběhu reakcí. Velmi slibných výsledků lze také dosáhnout použitím roztoku kyseliny chlorovodíkové v ethylacetátu. Zde se využívá přítomnosti *tert*-butyldimethylsilyl (TBDSM) nebo *tert*-butyldifenylsilyl (TBDPS) etherů.⁵⁹ Pokud se *tert*-butyl [6-(methakryloylamino) hexyl] karbamát **65** rozpustí v ethylacetátu a následně se přidá kyselina chlorovodíková, tak dochází ke vzniku akrylamidu **66**.⁵⁸



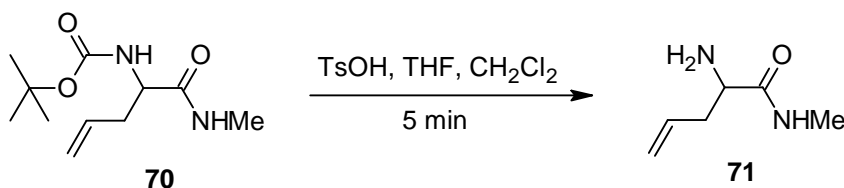
Použití kyseliny chlorovodíkové v přítomnosti methanolu a acetylchloridu je vhodná metoda pro N-t-Boc deprotekcí. Tento postup se dá také využít v syntézách esterů karboxylových kyselin nebo hydrochloridů aminů. V konkrétním případě je uvedena deprotekcí aminopropanové kyseliny **67**, která v již zmiňovaném prostředí přechází na hydrochlorid methoxypropanolu **68**.⁵¹



Jednou z nejčastěji používaných látek k odštěpení chránící Boc skupiny je kyselina trifluoroctová. Často se přidává thiofenol pro potlačení vedlejších reakcí. Vzniklý *tert*-butylový kationt se váže za vzniku *tert*-butylfenyl sulfidu **69**. Při reakcích s *tert*-butyldimethylsilylovými (TBDSM) nebo *tert*-butyldifenylsilylovými (TBDPS) skupinami k deprotekcím nedochází. Tyto skupiny jsou v přítomnosti kyseliny trifluoroctové během štěpení stabilní.⁵¹



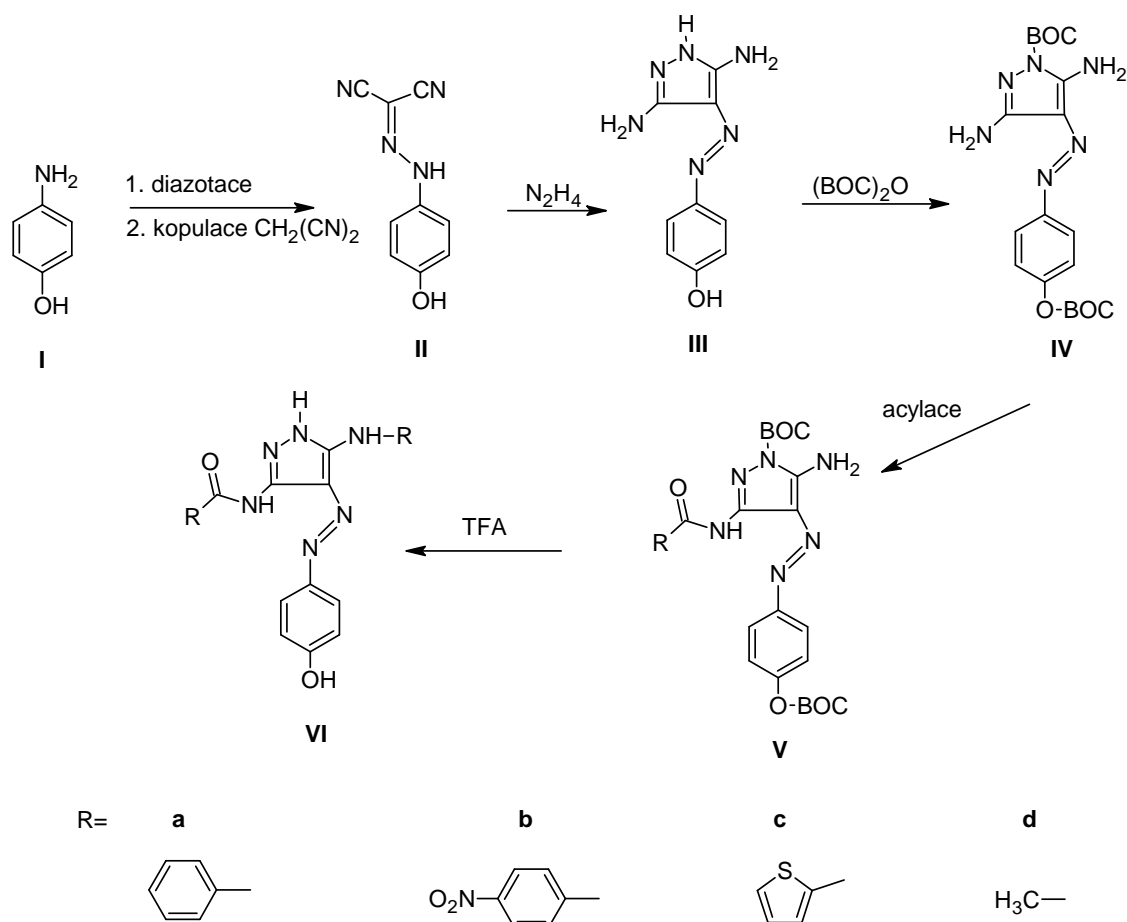
Variantou používání kyseliny trifluoroctové je kyselina p-toluensulfonová (TsOH). Pracuje se v prostředí tetrahydrofuranu a dichlormethanu v krátkých časových intervalech. Tato metoda byla vyvinuta pro pevné fáze peptidových syntéz. Kyselina p-toluensulfonová je používána z důvodu bezpečnosti, ekonomičnosti, nemá korozivní účinky a problém odpadů nedosahuje takových měřítek, jako při používání kyseliny trifluoroctové.⁵¹ Po přidání p-toluensulfonové kyseliny, tetrahydrofuranu a dichlormethanu k *tert*-butyl karbamátu **70** dojde k deprotekcí Boc chránící skupiny a vzniku enamidu **71**.



3 Přehled dosažených výsledků

3.1 Přehledné schéma připravených sloučenin

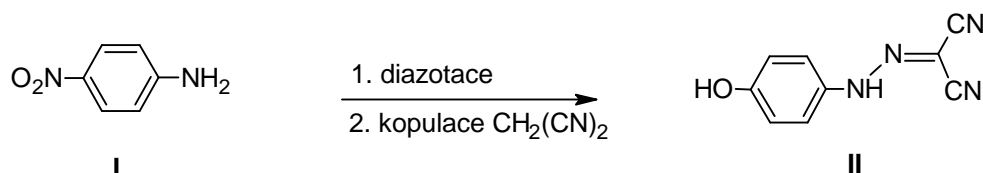
Cílem této práce bylo studium acylace Boc chráněného (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu **IV** s následnou selektivní deprotekcí Boc skupiny. Mezi acylační činidla patřily benzoylchlorid (**a**), 4-nitrobenzoylchlorid (**b**), thiofenkarbonylchlorid (**c**) a acetylchlorid (**d**). Za přítomnosti dusitanu sodného a kyseliny chlorovodíkové podléhá *p*-aminofenol **I** diazotaci a následně kopulaci malondinitilem za vzniku [*N*-(4-hydroxyfenyl)hydrazono]malononitrilu **II**. K získané látce se přidal hydrazin a vzniká pyrazol **III**. Ten se ochrání Boc skupinou a vzniká Boc chráněný pyrazol **IV**, který se acyluje a vznikají tak Boc chráněné acylpyrazoly **V**. Chránicí skupina se pak odstraní pomocí kyseliny trifluoroctové a za vzniku (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolů **VI**.



3.2 Příprava výchozích látek

3.2.1 Příprava [N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono]malononitrilu (II).

K syntéze [N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono]malononitril (II) byla zvolena metoda využívající diazotace p-aminofenolu (I) a následná kopulace s malondinitrilem.⁶⁰



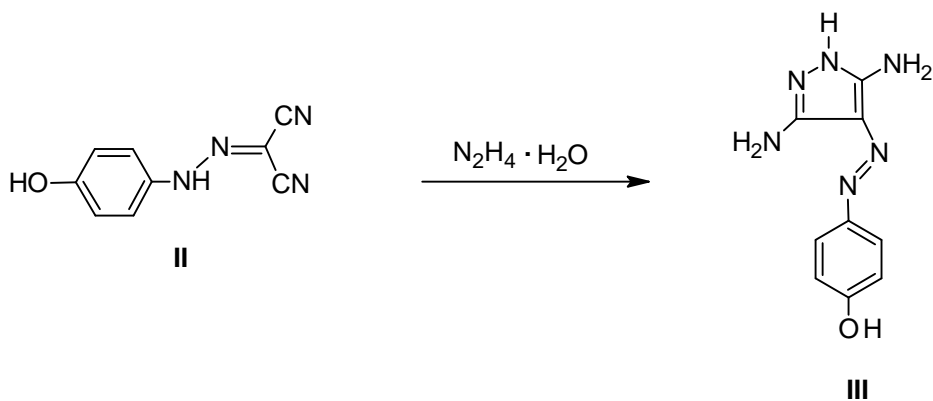
P-aminofenol (I) se rozpustil ve vodě za přidání kyseliny chlorovodíkové. Druhým diazotačním roztokem byl dusitan sodný ve vodě. Během diazotace je nutné chlazení z důvodu nebezpečí rozkladu diazoniové směsi. Za neustálého chlazení se nakonec přidává malondinitril. Reakce byla několikrát opakována s různými výtěžky.

Přehled výtěžků hydrazonu.

Syntéza	výtěžek
1.	58,2 %
2.	79,2%
3.	76,6%

3.2.2 Příprava 4-[(E)-2-(3,5-diamino-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl] fenolu (III).

Pyrazol (III) byl připraven z hydrazonu (II) reakcí s monohdrátem hydrazinu. Poměr kyanidu a hydrazinu byl 2:3. Reakční směs byla refluxována 4 hod. a rozpouštědlo bylo odpařeno.



Přehled výtěžků pyrazolu **III**.

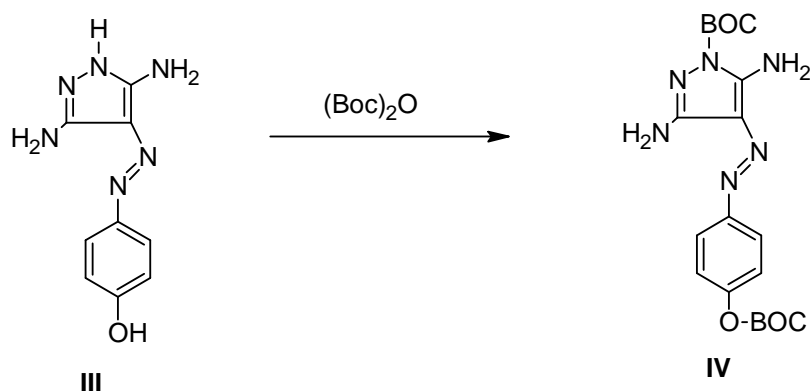
syntéza	výtěžek
1.	59,4 %
2.	75,5 %

3.3 Příprava (*E*)-*tert*-butyl-3,5-diamino-4-((4-((*tert*-butoxykarbonyl)oxy)fenyl)diazenyl)-1*H*-pyrazol-1-karboxylátu (**IV**).

Aby nedocházelo k acylacím na endocyklickém atomu dusíku nebo k tvorbě směsi polohových isomerů je nutno tyto dusíky ochránit. U dřívějších pokusů, při kterých se používala 2,4-dimethoxybenzyllová skupina, byla jednoznačná protekce na dusíku v pozici 1 a následně na hydroxylové skupině fenolu pomocí Boc skupiny.¹

Při počátečních syntézách byl hledán optimální poměr pyrazolu **III** a anhydridu. V závislosti na poměru byla pozorována přítomnost mono-Boc chráněného pyrazolu svědčící o nedostatku anhydridu, či až tri-Boc chráněného pyrazolu indikující velký nadbytek činidla, viz příloha 1. Bylo zjištěno, že poměr 1:2,2 ve prospěch Boc-anhydridu byl příznivý pro hladký průběh protekce Boc skupinou na endocyklickém dusíku v pozici 1 a na hydroxylové skupině fenolu, jak ukazuje příloha 2. Vzniká tedy di-Boc chráněný pyrazol (**IV**). Jako rozpouštědlo byl vybrán bezvodý pyridin před DMF. Při práci s DMF docházelo k častému nedoreagování a vzniku mono-Boc pyrazolů. Pyridin jakožto báze snáze rozpouští výchozí pyrazol **III** a

reakce s ním mají hladší průběh. Při reakci je velmi důležité pokud možno dodržovat bezvodé prostředí, aby bylo dosaženo co nejvyšších výtěžků a čistoty produktu.



Přehled výtěžků di-Boc chráněného pyrazolu **IV**.

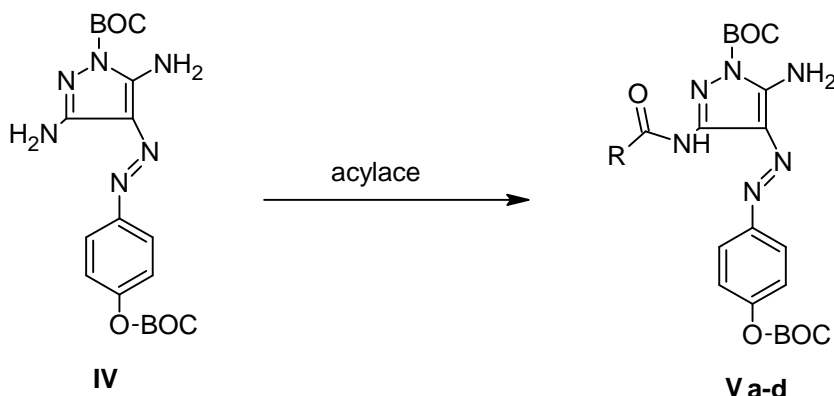
syntéza	výtěžek
1.	76,6 %
2.	85,9 %
3.	89,5 %
4.	79,2 %

3.4 Příprava Boc-chráněných acylpyrazolů.

K acylacím se používaly výše zmíněné chloridy; benzoylchlorid (**a**), 4-nitrobenzoylchlorid (**b**), thiofenkarbonylchlorid (**c**) a acetylchlorid (**d**).

Bocovaný pyrazol (**IV**) se nejprve rozpustil v destilovaném pyridinu. Pyridin byl použit pro své výborné vlastnosti. Funguje jako skvělé rozpouštědlo a báze. Poměr pyrazolů a acylačních činidel byl v **a-c** 1:1,1. Jenom poměr pyrazolu a acetylchloridu (**d**) byl 1:2. Chloridy, kromě 4-nitrobenzoylchloridu (**b**) se naředily DCM, z důvodu lepšího aplikování do reakce. 4-Nitrobenzoylchlorid je pevná látka a tu stačilo do reakce pouze přisypat. Pracovalo se pod septem, které bránilo styku reakční směsi s okolím a tudíž vázání vzdušné vlhkosti, která ovlivňuje průběh celé reakce. V době přidávání naředěných chloridů bylo nutno reakční směs chladit, protože docházelo k velkému

zahřívání. Předpokládá se, že acylace probíhají na aminoskupině v pozici 3, na základě podobných reakcí publikovaných v práci¹.

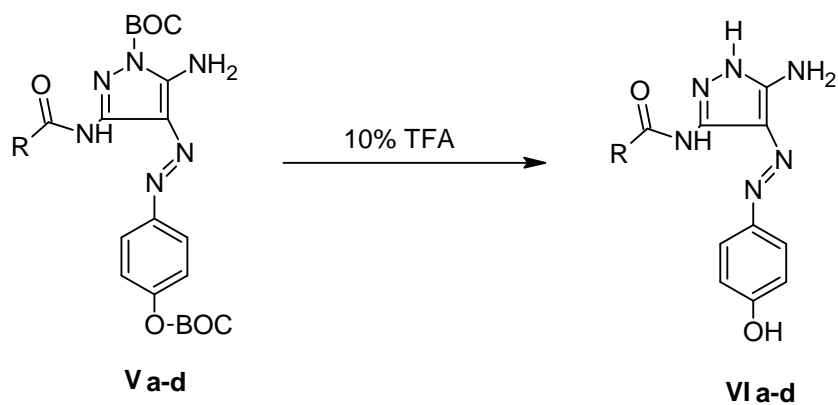


Přehled výtěžků Boc-chráněných acylovaných pyrazolů.

pyrazol	Výtěžek 1	Výtěžek 2
Va	97,9 %	96,6 %
Vb	90,1 %	98,2 %
Vc	83 %	98,6 %
Vd	69,4 %	99,2 %

3.5 Deprotekce acylovaných pyrazolů.

K odštěpení Boc skupin se používala 10% kyselina trifluoroctová zředěná DCM. Látky **Va-d** se nejprve rozpustily v DCM a následně se přidala zředěná kyselina trifluoroctová. Docházelo k odštěpení obou Boc skupin. Zprvu bylo možné pozorovat monobocovaný acylpyrazol, který se dále vlivem kyseliny přeměnil na acylované pyrazoly **Vla-d**, viz přílohy 3-6. Adekvátní doba odchránění byla pro každý acylpyrazol odlišná. Po neutralizaci přidáním amoniaku byly izolovány konečné produkty. Srovnáním vzniklých konečných acylpyrazolů **Vla-d** s identickými pyrazoly syntetizovanými postupem využívající Dmb chránící skupinu¹ se dospělo k závěru, že v obou případech probíhá acylace na aminoskupině v pozici 3. Jedná se tak o jednodušší a efektivnější metodu protekce endocyklického pyrazolového dusíku a fenolické skupiny.



Přehled výtěžků a doby odchránění pyrazolů.

pyrazol	Výtěžek	Doba deprotekce
VIa	91,6 %	2,5 hod.
VIb	84 %	2 hod.
VIc	99 %	3 hod.
VIId	99,4 %	3 hod.

4 Experimentální část

Všechny používané výchozí suroviny jsou komerčně dostupné. Komerční činidla byly použity bez čištění. LC/MS analýzy byly provedeny na UHPLC-MS systému, skládající se z UHPLC chromatografu Accela s fotodiodovou řadou a trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem TSQ Quantum Access (Thermo Scientific, CA, USA).

4.1 *[N-(4-hydroxyfenyl)hydrazono]malononitril (II)*

K 4,36 g (40 mmol) p-aminofenolu (**I**) bylo přidáno 50 ml vody a 17,6 ml kyseliny chlorovodíkové a celá směs byla rozpuštěna v ultrazvuku za pokojové teploty. Roztok byl chlazen na ledové lázni (0-5°C). Do roztoku byl za chlazení a míchání po kapkách přidán roztok 2,76 g (40 mmol) dusitanu sodného v 10 ml ledové vody. Vzniklá diazoniová sůl byla za chlazení a míchání ponechána 30 minut a pak byla po částech přidávána do chlazené suspenze 2,9 g (44 mmol) malondinitrilu a 35 g octanu sodného rozpuštěných ve 250 ml vody. Reakční směs byla chlazená, míchána 30 minut. Poté byla dána přes noc do lednice a další den byla vyloučená zlatá krystalická látka odsáta, promyta a sušena pod infra lampou. Bylo získáno 5,89 g (79,2 %). MS-APCI (*m/z*): 187.17 [M +1]⁺.

4.2 *4-[(E)-2-(3,5-diamino-1H-pyrazol-4-yl)diazenyl]fenol (III)*

3,68 g (20 mmol) hydrazonu (**II**) bylo rozpuštěno v 200 ml methanolu za laboratorní teploty. K roztoku bylo přidáno 1,46 ml (30 mmol) hydrazin monohydrátu a reakční směs se nechala 4 hod. refluxovat. Po ukončení reflexu byla reakční směs ochlazená na pokojovou teplotu a methanol byl odpařen na vakuové odparce. Produkt byl rekrystalován z vody. Druhý den byla hnědá krystalická látka odsáta, promyta vodou a sušena pod infra lampou. Bylo získáno 3,26 g (75,5%). MS-APCI (*m/z*): 419,04 [M +1]⁺.

4.3 (E)-*tert*-butyl-3,5-diamino-4-[(4-[(*tert*-butoxykarbonyl)oxy]fenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-1-karboxylát (IV)

500 mg (2,3 mmol) pyrazolu (III) bylo rozpuštěno ve 4 ml destilovaného pyridinu za pokojové teploty. Směs byla chlazená pod septem ve vodní lázni a následně se přidalo 1,16 ml (5,1 mmol) Boc anhydridu. Reakční směs se za míchání nechala přes noc reagovat. Druhý den byl nejprve odpařen pyridin. Následně byl přidán methanol a vše se odpařilo na vakuové odparce do sucha. Vysušená látka se rozpustila ve 3 ml methanolu a opatrně nakapala za míchání do 15 ml ledové vody. Sraženina byla odsáta, promyta vodou a vysušena pod UV lampou. Nejvíce bylo získáno 858 mg (89,5 %). MS-APCI (m/z): 419,04 $[M + 1]^+$.

4.4 (E)-*tert*-butyl-5-amino-3-benzamido-4-[(4-[(*tert*-butoxykarbonyl)oxy]fenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-1-karboxylát (Va)

200 mg (0,48 mmol) Boc-chráněného pyrazolu (IV) bylo rozpuštěno ve 4 ml destilovaného pyridinu. Poté bylo smícháno 61,3 μ l (0,53 mmol) benzoylchloridu a 1 ml dichlormethanu. Tato směs byla vnesena do roztoku, který byl chlazen v ledové lázni. Reakce se za míchání nechala přes noc. Druhý den byl roztok odpařen na vakuové odparce. Ke odparku byly přidány 3 ml methanolu a celý roztok byl opatrně nakapán do 15 ml ledové vody. Vyloučila se žlutá látka, která byla odsáta, promyta vodou a sušena pod infra lampou. Bylo získáno 244 mg (97,85 %). MS-APCI (m/z): 522,95 $[M + 1]^+$.

4.5 (E)-*tert*-butyl-5-amino-4-[(4-[(*tert*-butoxykarbonyl)oxy]fenyl)diazenyl]-3-(4-nitrobenzamido)-1H-pyrazol-1-karboxylát (Vb)

200 mg (0,48 mmol) Boc-chráněného pyrazolu (IV) bylo rozpuštěno ve 4 ml destilovaného pyridinu. Za chlazení v ledové lázni bylo do roztoku přidáno 24,4 g (0,53 mmol) 4-nitrobenzoylchloridu. Reakce se za míchání nechala přes noc. Druhý den byl

roztok odpařen na vakuové odparce do sucha. K odparku byly přidány 3 ml methanolu a tento roztok byl nakapán do 15 ml ledové vody. Vyloučená látka byla odsáta, promyta vodou a sušena pod infra lampou. Bylo získáno 266,6 mg (98,24 %). MS-APCI (m/z): 567,90 [M +1]⁺.

4.6 (E)-*tert*-butyl-5-amino-4-[(4-[(*tert*-butoxykarbonyl)oxy]fenyl)diazenyl]-3-(thiofen-2-karboxamido)-1H-pyrazol-1-karboxylát (Vc)

200 mg (0,48 mmol) Boc-chráněného pyrazolu (**IV**) bylo rozpuštěno ve 4 ml destilovaného pyridinu. Poté se připravil roztok 56,3 μ l (0,53 mmol) thiofenkarboylchloridu a 1 ml dichlormethanu, který byl za chlazení přidán. Reakční směs byla míchána za stálého míchání přes noc. Po odpaření pyridinu na vakuové odparce byly k odparku přidány 3 ml methanolu a celý roztok byl opatrně nakapán do 15 ml ledové vody. Vyloučená sraženina byla odsáta, promyta vodou a sušena pod infra lampou. Bylo získáno 264,1 mg (98,59 %). MS-APCI (m/z): 528,97 [M +1]⁺.

4.7 (E)-*tert*-butyl-3-acetamido-5-amino-4-[(4-[(*tert*-butoxykarbonyl)oxy]fenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-1-karboxylát (Vd)

200 mg (0,48 mmol) Boc-chráněného pyrazolu (**IV**) bylo rozpuštěno ve 4 ml destilovaného pyridinu. Do roztoku bylo za chlazení v ledové lázni přidáno 68,03 μ l (0,96 mmol) acetylchloridu s 1 ml dichlormethanu. Reakce se za pokojové teploty a míchání nechala běžet přes noc. Druhý den byl roztok vysušen na vakuové odparce do sucha. Vysušená látka se rozpustila ve 3 ml methanolu a byla pomalu nakapána do 15 ml vody. Vytvořila se sraženina, která byla odsáta, promyta vodou a vysušena pod infra lampou. Bylo získáno 221,7 mg (99,18 %). MS-APCI (m/z): 460,97 [M +1]⁺.

4.8 (E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}benzamid (VIa)

Ke 100 mg (0,2 mmol) Boc-chráněnému acylpyrazolu (**Va**) byl přidán 1 ml zředěné kyseliny trifluoroctové (100 μ l kyseliny trifluoroctové a 900 μ l dichlormethanu). Tato reakční směs byla ponechána 2,5 hod reagovat. Poté byla kyselina spolu s DCM odpařena proudem dusíku, přidáno menší množství methanolu a celý roztok se nechal odpařit do sucha na vakuové odparce. Odparek byl za míchání přidán do 10 ml vody. Neutralizací amoniakem byla vyloučená sraženina odsáta, promyta vodou a sušena pod infra lampou. Bylo získáno 56,5 mg (91,6 %). MS-APCI (m/z): 322,89 [M +1]⁺.

4.9 (E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-4-nitrobenzamid (VIb)

Ke 100 mg (0,18 mmol) Boc-chráněnému acylpyrazolu (**Vb**) byl přidán 1 ml zředěné kyseliny trifluoroctové (100 μ l kyseliny trifluoroctové a 900 μ l dichlormethanu). Po dobu 2 hod. se nechala tato směs reagovat. Zředěná kyselina byla spolu s DCM odpařena proudem dusíku a následně bylo přidáno malé množství methanolu. Na vakuové odparce byl roztok odpařen do sucha a přidán za míchání do 10 ml vody. Neutralizací amoniakem byla vyloučená sraženina odsáta, promyta vodou a vysušena pod infra lampou. Bylo získáno 54,4 mg (84 %). MS-APCI (m/z): 367,84 [M +1]⁺.

4.10 (E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-thiofen-2-karboxamid (VIc)

Ke 100 mg (0,19 mmol) Boc-chráněnému acylpyrazolu (**Vc**) byl přidán 1 ml zředěné kyseliny trifluoroctové (100 μ l kyseliny trifluoroctové a 900 μ l dichlormethanu). Reakční směs byla ponechána reagovat po dobu 3 hod. Poté byly těkavé složky reakční směsi odpařeny proudem dusíku a odparek rozpuštěn v malém množství methanolu. Methanol byl na vakuové odparce odpařen a získaný odparek byl za míchání přidán

do 10 ml vody. Neutralizací amoniakem byla vyloučená sraženina odsáta, promyla vodou a vysušena pod infralampou. Bylo získáno 61,5 mg (99%). MS-APCI (m/z): 328,83 $[M + 1]^+$.

4.11 (E)-N-{5-amino-4-[(4-hydroxyfenyl)diazenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-acetamid (VId)

Ke 100 mg (0,22 mmol) Boc-chráněnému acylpyrazolu (**Vd**) byl přidán 1 ml zředěné kyseliny trifluoroctové (100 μ l kyseliny trifluoroctové a 900 μ l dichlormethanu). Reakční směs byla ponechána reagovat po dobu 3 hodin. Následně byly kyselina a DCM odpařeny proudem dusíku a zbytek se rozpustil v malém množství methanolu. Na vakuové odparce se methanol odpařil. Odparek byl za míchání rozpuštěn v 10 ml vody. Neutralizací amoniakem byla sraženina odsáta, promyla vodou a vysušena pod infra lampou. Bylo získáno 56,2 mg (99,4%). MS-APCI (m/z): 260,82 $[M + 1]^+$.

5 Závěr

Cílem práce bylo studium acylace Boc chráněného (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu a následné selektivní deprotektce Boc skupin acylovaných derivátů pyrazolu. V teoretické části byly přehledně shrnuty základní metody syntézy pyrazolového cyklu a metody protekce a deprotektce Boc skupinou.

Předmětem experimentální části bylo připravit již známé acylované deriváty (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenolu s využitím Boc chránící skupiny a popsat podmínky za jakých se k požadovaným sloučeninám došlo. Nejprve byla pomocí diazotace a následné kopulace s malondinitrilem vyrobena sloučenina **II**. Po přidání hydrazinu vzniká diaminopyrazol **III**, který se následně nechá zreagovat s chránící Boc skupinou, aby došlo k tvorbě Boc-chráněného pyrazolu **IV**.

K pyrazolu **IV** se postupně přidávaly acylační činidla, mezi které patřily benzoylchlorid, 4-nitrobenzoylchlorid, thiofenkarbonylchlorid a acetylchlorid. Vznikaly tak Boc-chráněné acylované (*E*)-4-((3,5-diamino-1*H*-pyrazol-4-yl)diazenyl)fenoly **Va-d**. Obě chránící Boc skupiny byly odstraněny zředěnou kyselinou trifluoroctovou, která se ukázala jako nejvhodnější.

Závěrečným porovnáváním získaných pyrazolů **Vla-d** s pyrazoly připravenými pomocí metody využívající Dmb chránící skupinu¹ se ukázalo, že acylace jednoznačně probíhají na aminoskupině. Ze získaných experimentálních výsledků zatím není možné jednoznačně určit, která ze dvou aminoskupin je acylována. Avšak na základě analogie protekce endocyklického pyrazolového dusíku Dmb skupinou, lze s velkou pravděpodobností usuzovat, že acylace probíhá na vzdálenější, stericky dostupnější aminoskupině vzhledem k Boc skupině.

Nově ověřovaná protektivní metoda využívající Boc skupinu jednodušším způsobem ochraňuje pyrazolový endocyklický dusík a fenolickou skupinu. Zároveň lze protektivní skupinu odstranit za mírnějších podmínek. Avšak některé acylační pokusy naznačují, že při použití Boc chránící skupiny jsou pyrazolové aminoskupiny méně ochotné k acylaci, než je tomu právě při aplikaci Dmb skupiny. Dříve používaná metoda pracující s chránící Dmb skupinou je sice komplikovanější, ale v případě, když se tato skupina zavádí ve formě 2,4-dimethoxybenzylhydrazinu poskytuje jednoznačně pyrazoly s chráněným endocyklickým dusíkem, což při použití Boc skupiny nelze hned jednoznačně určit a je třeba použít další strukturně analytické postupy.

Bakalářská práce je dále obohacena o přílohy popisující mimo jiné i průběh jednotlivých deprotekcí v závislosti na čase. Z těchto experimentálních výsledků lze vypočítat, že Boc skupina, pravděpodobně vázaná na fenolickou skupinu, je více labilní. Při optimalizaci deprotektce by potenciálně tato skupina mohla být selektivně odštěpena. Z časových důvodů tato studie nebyla provedena.

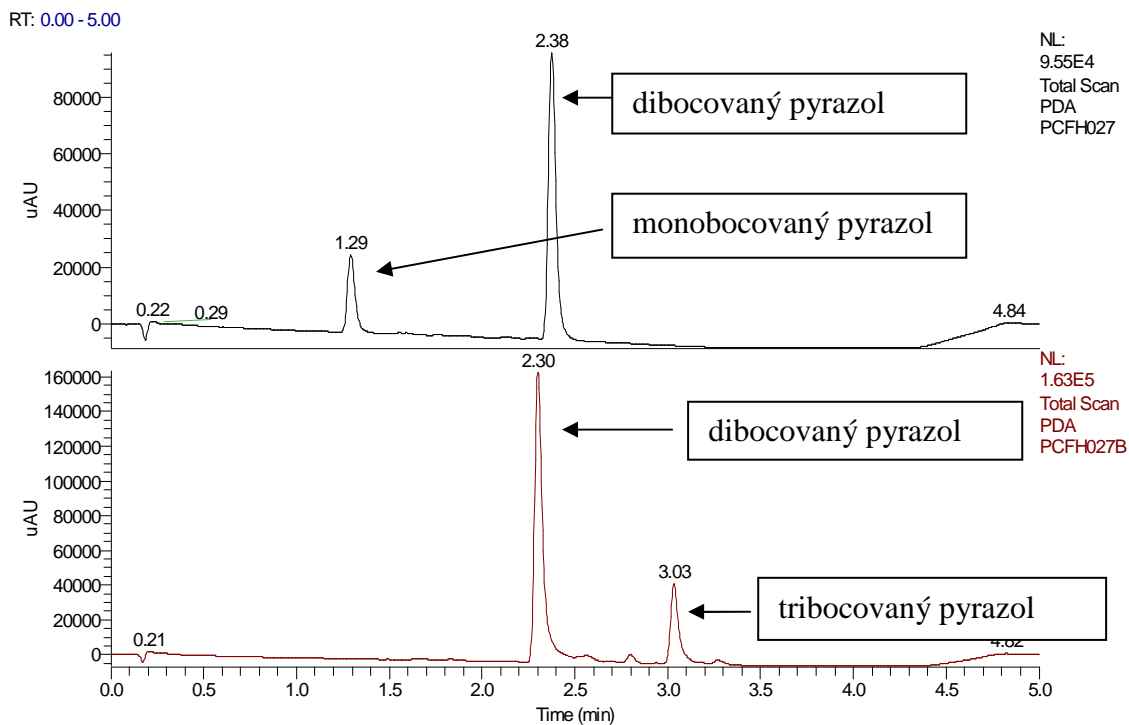
6 Seznam použité literatury

1. Schütznerová, E.; Popa, I.; Kryštof, V.; Koshino, H.; Trávníček, Z.; Hradil, P.; Cankař, P., *Tetrahedron*, **68**, 3996, (2012).
2. von Ragué Schleyer, P.; Maerker, C.; Dransfeld, A.; Jiao, H.; van Eikema Hommes, N. J. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 6317, (1996).
3. Grimmett, M. R., In *Comprehensive Organic Chemistry*, Barton, D. H. R.; Ollis, W. D., Eds.; Pergamon: Oxford, **4**, 357, (1979).
4. Jacobs, T. L., In *Heterocyclic Compounds*, Elderfield, R. C., Ed.; Wiley: New York, **5**, 45, (1957).
5. Kost, A. N.; Grandberg, I. I., *Adv. Heterocycl. Chem.*, **6**, 347, (1966).
6. Behr, L. C.; Fusco, R.; Jarboe, C. H., In *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, Interscience: New York, **22**, 1, (1967).
7. Elguero, J., In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Katritzky, A. R.; Rees, C. W., Eds.; Pergamon: Oxford, **5**, 167, (1984).
8. Elguero, J., In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. V., Eds.; Elsevier: Oxford, **3**, 1, (1996).
9. Stanovnik, B., *Science of Synthesis*, **12**, 22, 84, 99, 108, 110, 121, (2002).
10. Jones, R. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 3994, (1949).
11. Finar, I. L.; Hurlock, R.J., *J. Chem. Soc.*, 3024, (1957).
12. Knospe, H. J.; Lunkenheimer, W.; Fedtke, C., DE 3 332 271, (1983); *Chem Abstr.*, **102**, 216901, (1985).
13. Gupta, D. R.; Arora, R. K., *Rev. Roum. Chem.*, **30**, 37, (1985); *Chem Abstr.*, **103**, 141883x, (1985).
14. Tietze, L. F.; Steinmetz, A., *Synlett*, 667, (1996).
15. Freeman, F. *Chem. Rev.*, **69**, 591, (1969).
16. Gray, E. J.; Stevens, H. N. E.; Stevens, M. F. G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 885, (1978).
17. Elnagdi, M. H.; Allah, S. O. A., *J. Prakt. Chem.*, **315**, 1009, (1973).
18. Vaquero, J. J.; Fuentes, L.; Del Catillo J. C.; Pérez, M. I.; Garcia, J. L., *Synthesis*, 33, (1987).
19. Repke, D. B.; Albrecht H. P.; Moffatt, J. G., *J. Org. Chem.*, **40**, 2481, (1975).
20. Chauchan, S. M. S.; Junjappa, H., *Synthesis*, 798, (1975).
21. Fomum, Z. T.; Landor, S. R.; Landor, P. D.; Mpyngo, G. W. P., *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, 2997, (1981).
22. Fomum, Z. T.; Ifeadiker, P. N., *J. Heterocycl. Chem.*, **22**, 1611, (1985).
23. Guillerm, G; Honore, A. L.; Veinard, L.; Pourcelot, G.; Benaim, J., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2739, (1973).

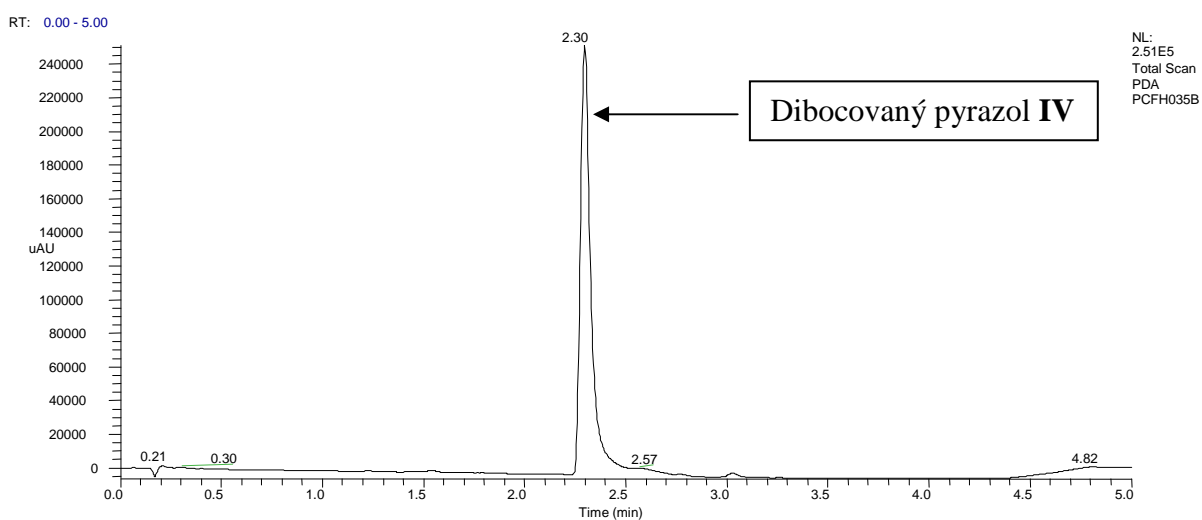
24. Arher-ton, J. H.; Fields, R., *J. Chem. Soc. C*, 1507, (1968).
25. Witiak, D. T.; Lu, M. C., *J. Org. Chem.*, **33**, 4451, (1968).
26. Pizzioli, L.; Ornik B.; Svete, J.; Stanovnik B., *Helv. Chim. Acta*, **81**, 231, (1998).
27. Stanovnik, B., *Science of Synthesis*, **12**, 124, (2002).
28. Finar, I. L.; Godfrey, K. E., *J. Chem. Soc.*, 2293, (1954).
29. Duffin, G. F.; Kendall, J. D., *J. Chem. Soc.*, 3969, (1955).
30. Drummond, J.; Johnson, G.; Nickell, D. G.; Ortwin-a, D. F.; Bruns, R. F.; Welbaum, B., *J. Med. Chem.*, **32**, 2116, (1989).
31. Chantegrel, B.; Gelin, S., *Synthesis*, 548, (1985).
32. Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Foces-Foces, C.; Llamas-Saiz, A. L.; Jagerovic, N.; Elguero, J., *Tetrahedron*, **55**, 10187, (1999).
33. Stanovnik, B., *Science of Synthesis*, **12**, 160, (2002).
34. Curzu M. M.; Pinna, G. A.; Barlocco, D.; Cignarella, G., *J. Heterocycl. Chem.*, **27**, 205, (1990).
35. Elguero, J.; Guiraud, G.; Jacquier, R., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 619, (1966).
36. Gladstone, W. A. F.; Norman, R. O. C., *J. Chem. Soc. C*, 1536, (1966).
37. Dorn H.; Hilgetag, G.; Zubek, A., *Chem. Ber.*, **98**, 3368, (1965).
38. Dorn H.; Zubek, A., *Org. Synth. Coll. Vol. V*, 39, (1973).
39. Majchrzak, M. W.; Jefferson, E.; Warkentin, J., *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 2449, (1990).
40. Hüttel, R.; Franke, K.; Martin, H.; Riedl, J., *Chem. Ber.*, **93**, 1433, (1960).
41. Sammes, M. P.; Katritzky, A. R., *Adv. Heterocycl. Chem.*, **34**, 1, (1983).
42. Schäfer, H.; Gewalt, K. *J. Prakt. Chem.*, **323**, 332. (1981).
43. Hüttel, R.; Schäfer, O.; Welzel, G., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **598**, 186, (1956).
44. Hüttel, R.; Kratzer, J., *Chem. Ber.*, **92**, 2014, (1959).
45. Ried, W.; Deuschel, G.; Kotel'ko, A., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **642**, 121, (1961).
46. Bodanszky, M., *Principles of Peptide chemistry*, 99, (1984).
47. Basel, Y.; Hassner, A., *J. Org. Chem.*, **65**, 6368-6380, (2000).
48. Augustine, J. K.; Naik, Y. A.; Vairaperumal, V.; Narasimhan, S., *Tetrahedron*, **65**, 134-138, (2009).
49. Howe, J. H.; Morris, L. R., *The Dow Chemical Po.*, **27**, 1901-1902, (1962).
50. Pope, M.; Yamamoto, Y.; Tarbell, D. S., *Organic Syntheses*, **6**, 418, (1988).
51. Green, W.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 281-282, 518-525, 736-739, (1999).
52. Tarbell, D. S.; Yamamoto Y.; Pope, B. M., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **69**, 730, (1972).
53. Ponnusamy, E.; Fotadar, U.; Spisni, A.; Fiat, D., *Synthesis*, **48**, (1986).

54. Einhorn, J.; Einhorn C.; Luche, J. L., *Synlett*, **37**, (1991).
55. Khalil, E. M.; Subasinghe, N. L.; Johnson, R. L., *Tetrahedron Lett.*, **37**, 3441, (1996).
56. Houlihan, F.; Bouchard, F.; Frechet, J. M. J.; Wilsson, C. G., *Can J. Chem.*, **63**, 153 (1985).
57. Hansen, M. M.; Jennifer, R. R., *Tetrahedron Lett.*, **39**, 2705, (1998).
58. Stahl, G. L.; Walter, R.; Smith, C. W., *J. Org. Chem.*, **43**, 2285, (1978).
59. Cavelier, F.; Enjalbal, C., *Tetrahedron Lett.*, **37**, 5131, (1996).
60. Kryštof, V.; Cankař, P.; Fryšová, I.; Slouka, J.; Kontopidis, G.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Srovnal, J.; de Azevedo, W. F. Jr.; Orság, M.; Paprskářová, M.; Rolčík J.; Látr, A.; Fischer, P. M.; Strnad M., *J. Med. Chem.*, **49**, 6500, (2006)

7 Přílohy

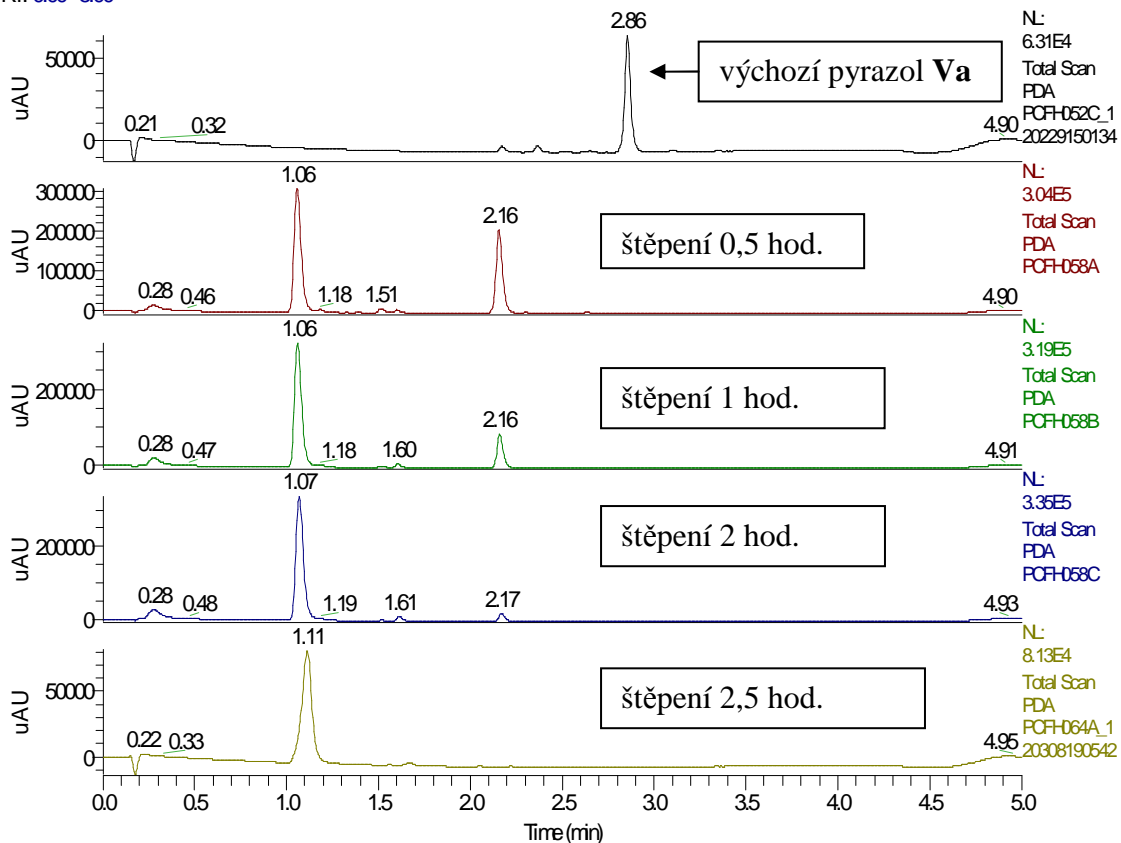


Příloha 1



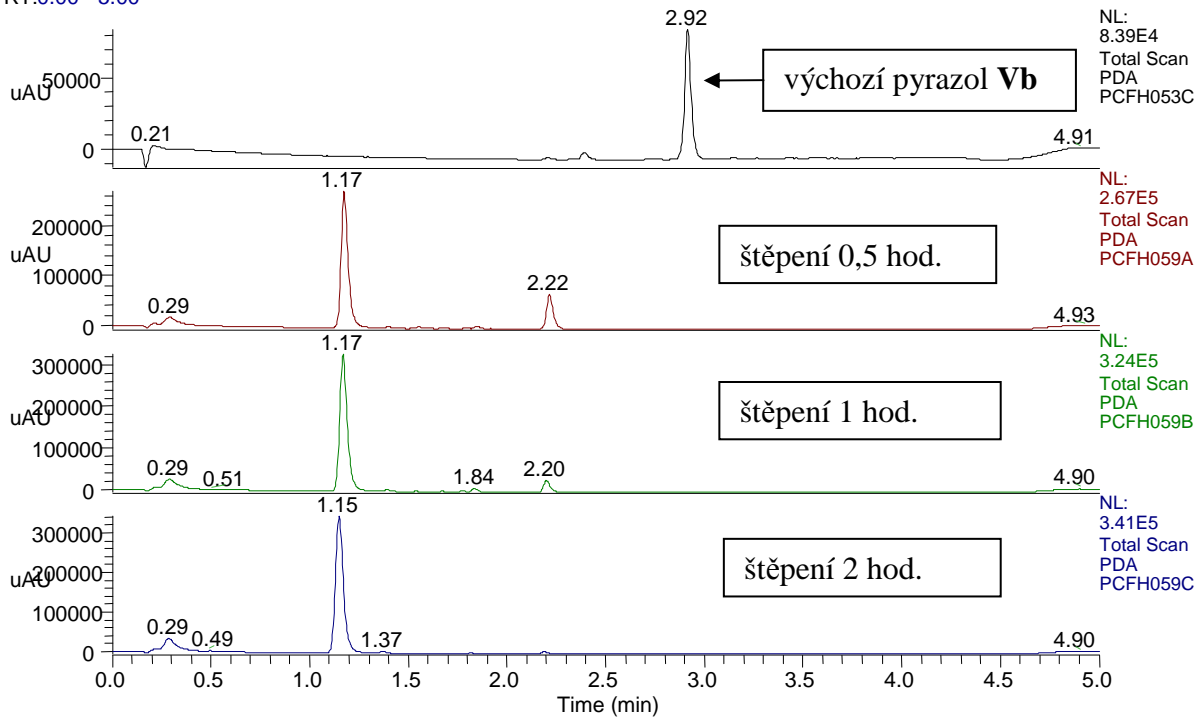
Příloha 2

RT: 0.00-5.00



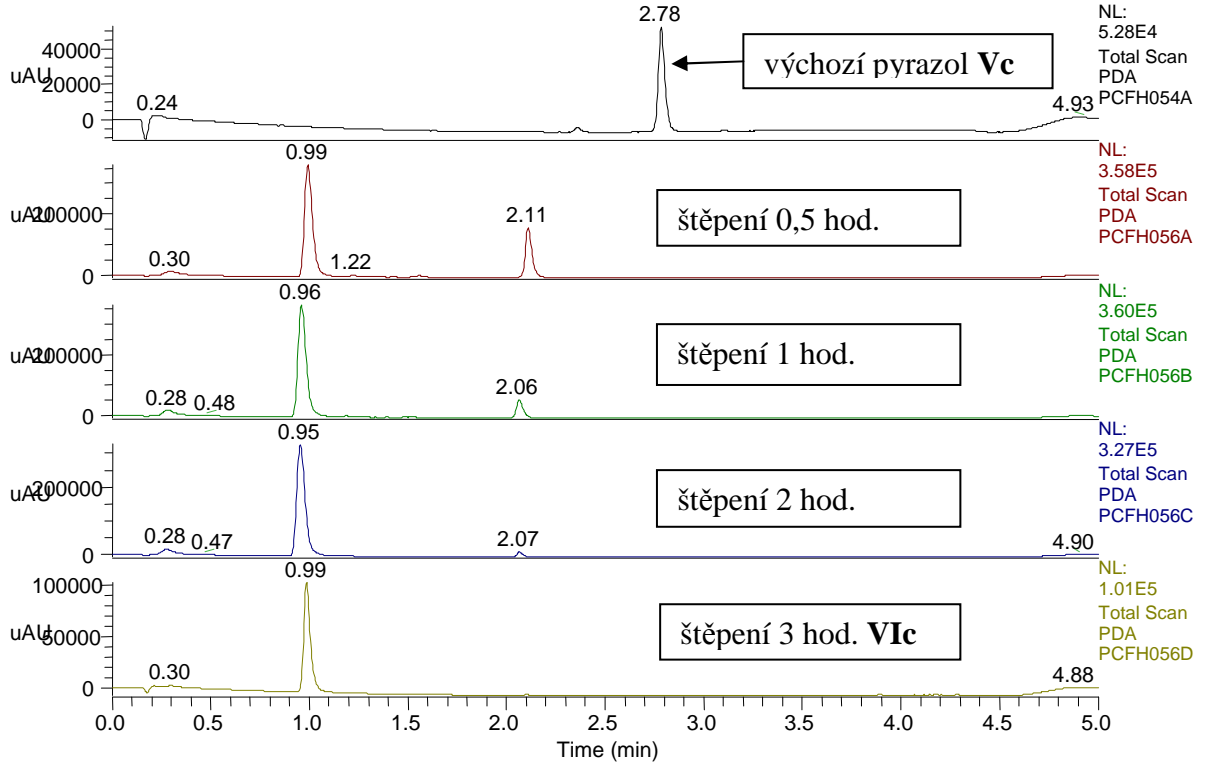
Příloha 3

RT: 0.00 - 5.00



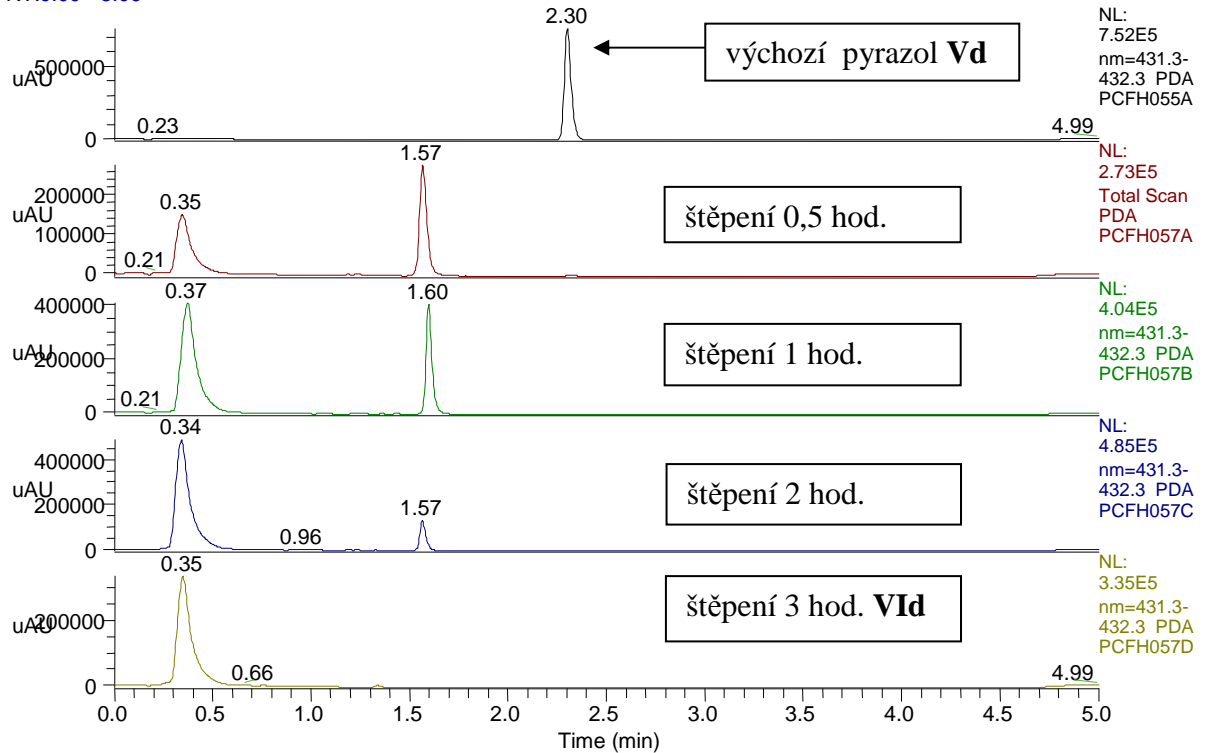
Příloha 4

RT:0.00 - 5.00



Příloha 5

RT:0.00 - 5.00



Příloha 6